Bewegung und Orientierung bei Micrasterias denticulata Bréb. im Licht

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades
vorgelegt von

Wilhelm Neuscheler
aus Tübingen

1966

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
1967

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen - Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1966

Dekan: Professor Dr. E. Wirth
1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Haupt
2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Kessler

Sonderdruck aus «Zeitschrift für Pflanzenphysiologie» Band 57, Heft 1 und 2 (1967)

Nicht einzeln im Buchhandel! *Überreicht vom Verfasser*

Sonderdruck aus
Zeitschrift für Pflanzenphysiologie
Band 57, Heft 1, Seite 46–59 (1967)
Gustav Fischer Verlag Stuttgart

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Bewegung und Orientierung bei *Micrasterias denticulata* Bréb. im Licht

I. Zur Bewegungs- und Orientierungsweise*)**)

W. Neuscheler

Mit 10 Abbildungen

Eingegangen am 20. September 1966

*) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung Volkswagenwerk.

**) Erster Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Summary

Locomotion and orientation in Micrasterias denticulata Bréb. as influenced by light

1. The mucilage traces left on the bottom of the cuvette by the creeping cells and made visible later on by methylviolet indicate the mode of motion: They show the oscillating movements as meanders (GS), and the flipping movements of the cells, caused by changing of polarity, as interruptions of the mucilage traces. Another very narrow oscillation within the trace itself may be caused by the swelling of the mucilage.
2. In the positive phototaxis, the periods and amplitudes of the oscillations decrease (and become more regular) with increasing light intensity.
3. The orientation of the cells, e. g. their tendency to face the light, is independent of the oscillating movement, since this response does occur also among cells which do not show the oscillating movement. This oscillation, therefore, is not a prerequisite of the orientation.
4. The cell produces the mucilage only at its rear pole – whether the polarity switches or not.
5. During the day-time, the cells show the tendency to align their longitudinal axis parallel to the direction of the incident light, especially in the range of optimal phototactic response. This holds true in horizontal as well as in vertical irradiation.
6. In the indifference range where the positive phototactic response turns to the negative one, the cells align themselves to face the incident light without appreciable movement. The light intensity necessary for this indifference range changes corresponding with the time of day.

Zusammenfassung

Die angefärbte Kriechspur wird in Beziehung gebracht zur Bewegungs- und Orientierungsweise, insbesondere zur Pendelbewegung und zu Überschlagungen der Zellen infolge Polaritätswechsels, die beide einen Zusammenhang mit der Lichtintensität zeigen. Die Pendelbewegung scheint am Zustandekommen der Orientierung zum Licht nicht beteiligt zu sein. Der Anstellwinkel der Zellen zur Substrat- und Lichtrichtung wird vor allem durch Richtung und Intensität des Lichtes bestimmt. Bei deutlich positiver Orientierung tendieren die Zellen mit der Längsachse parallel zur Lichtrichtung, während sie sich in der Indifferenzzone mit der Fläche senkrecht zur Lichtrichtung orientieren.

1. Einleitung

Aus neuerer Zeit liegen über die Desmidiaceen, insbesondere *Micrasterias*, zahlreiche entwicklungsphysiologische und morphologische Arbeiten vor (vgl. Literaturverzeichnis bei KIERMAYER 1965). Auf dem Gebiet der Phototaxis gehen unsere Kenntnisse aber zum größten Teil noch auf die Arbeiten von STAHL (1880), KLEBS (1886) und ADERHOLD (1888) zurück (vgl. HAUPT 1959).

Anknüpfend an die z. T. widersprüchlichen Beobachtungen der älteren Autoren wurde in der vorliegenden Arbeit die Bewegungs- und Orientierungsweise der Zellen auf horizontaler und vertikaler Substratfläche untersucht. Teils wurden die Zellen selbst während der Bewegung beobachtet, teils wurde die von den Zellen während der Kriechbewegung auf dem Substrat hinterlassene Gallertspur, nach Anfärben mit Methylviolett, mit der Bewegung in Beziehung gebracht. Von besonderem Interesse waren dabei die Einstellung der Zellängsachse zur Licht-, Schwerkraft- und Substratrichtung, die Pendelbewegung der Zellen und die Mäanderform der Kriechspur.

2. Material und allgemeine Methodik

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich mit *Micrasterias denticulata* Bréb. durchgeführt. Zu vergleichenden Versuchen wurden gelegentlich noch *Micrasterias rotata*, *Pleurotaenium trabecula* und *Cosmarium spec.* herangezogen. *Micrasterias denticulata* entstammte der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (Nummer: LB – 1 b).

Die Kultur erfolgte als Klon in der bei WARIS (1953) angegebenen MXS-Lösung mit EDTA-Zusatz, pH 6,5. Als Kulturgefäße dienten Petrischalen von 10 und 15 cm Durchmesser, die 4–5 mm hoch mit Nährlösung gefüllt wurden. Die Nährlösung wurde alle 7–10 Tage erneuert. Nach 4–5 Wochen wurden die Kulturen in neue Schalen umgesetzt. Die Schalen befanden sich auf heller Unterlage unter einer Lage Filterpapier in einem ca. 70 × 70 × 80 cm großen, weißgestrichenen Holzkasten, der mit zwei Leuchtstoffröhren Osram L/35 zu je 20 Watt täglich von 7–21 Uhr beleuchtet wurde. Die Lichtintensität am Ort der Kulturschalen betrug, ohne cos-Vorsatz gemessen, ca. 600–800 Lux. Der Kulturkasten stand in einem mäßig temperaturkonstanten Raum. Die Raumtemperatur schwankte im allgemeinen zwischen 17–22° C. Auf die Dauer erwies sich eine Temperatur von 18–20° C als optimal. Mit dem Beleuchtungsrhythmus verknüpft war eine tägliche Temperaturschwankung von 2–3° C im Kulturkasten.

Unter diesen Bedingungen betrug die Generationsdauer bei *M. dent.* ca. 5–7 Tage. Diese Zeit konnte bei Kulturen auf 0,25 %igem Agar während der ersten Generationen auf drei Tage abgekürzt werden. In Flüssigkeitskulturen traten Zellteilungsstadien vorwiegend in der Zeit zwischen 6 und 12 Uhr vormittags auf. Die Trennung der Tochterzellen erfolgte während der folgenden Nacht.

Die Handhabung der Zellen erfolgte mittels Saugpipetten, deren 0,3–0,5 mm weite Spitzen zur Verhütung von Zellverletzungen glattgeschmolzen waren. Die Versuche wurden in kleinen, mit Nährlösung angefüllten Küvetten durchgeführt. Die Anfärbung der Gallertspuren wurde nach vorsichtigem Abgießen der Lösung aus der Küvette und Antrocknenlassen mit wäßriger Methylviolettlösung vorgenommen.

Die direkte Beobachtung der Zellen erfolgte je nach Fragestellung entweder senkrecht von oben oder horizontal von der Seite her. Im letzteren Falle wurde eine kleine Küvette auf dem Kreuztisch eines kondensorlosen Horizontalmikroskopes befestigt. Die zu beobachtenden Zellen wurden zur Verbesserung der optischen Verhältnisse auf ein kleines, in die Küvette gestelltes Deckglasbänkchen aufgebracht. Die jeweilige Höhe der Zellen über der Substratfläche ging aus der Entfernung zu ihrem Spiegelbild hervor. Als Hilfsbeleuchtung während der Beobachtungen diente hinter einem Grünglas VG 9 (Fa. Schott) und einem Opalglas eine Zwerg-

lampe von 0,7 Watt. Horizontale, substratparallele Lichteinstrahlung auf die Zellen war auch bei äußerlich leicht gegen die Substratfläche geneigter Einstrahlung gewährleistet durch die Summierung des direkten und des an der Substratfläche reflektierten Lichtbündels. Für Beobachtungen mit einem Lichteinfallswinkel von 45° wurde eine Küvette mit einer unter 45° eingesetzten Frontscheibe benutzt.

3. Beziehungen zwischen Zellbewegung und Gallertspur

3.1. Direkte Beobachtung der Bewegung

Die Fortbewegung der Desmidiaceen erfolgt, wie schon die älteren Autoren beobachteten, unter ständigem Pendeln bzw. Kreisen des freien Vorderendes um den hinteren, dem Substrat bzw. Gallertfaden aufsitzenden Pol der Zellängsachse, der die Bewegungsgallerte absondert. Bei den langgestreckten Formen: *Closterium* und *Pleurotaenium* ist das Kreisen besonders auffallend.

Nach eigenen Beobachtungen beschrieb *Pleurotaenium* in einem unter 45° gegen das Substrat einfallenden Lichtbündel von 100 Lux, mit dem Vorderende rotierend, einen auf der Spitze stehenden Kegelmantel mit einem Öffnungswinkel von ca. 90°, dessen Achse ungefähr parallel zur Lichtrichtung lag. Bei seitlicher Beobachtung lagen die Zellen in den Extremlagen parallel bzw. senkrecht zum Boden. Die Rotation, die von aperiodischen Ruhepausen unterbrochen war, erfolgte in günstigen Fällen mit ca. 1 U/min. Ob hierbei auch eine Rotation um die Längsachse der Zelle erfolgt, konnte nicht festgestellt werden. Unter gleichen Bedingungen zeigte *M. denticulata* eine mehr oder weniger periodische Änderung des Anstellwinkels zum Substrat von 0 bis 50°, im Extremfall bis 90°, mit einer Periodenlänge von 3–5 min. Ein Zusammenhang mit dem Pendeln in der Horizontalebene wurde hierbei aber nicht beobachtet.

Bei horizontaler Einstrahlung dagegen liegen die Zellen flach oder mit dem Vorderende nur leicht angestellt am Boden. Bei Beobachtung dieser Zellen von oben zeigte sich eine von ständigen, kleinen Ruckbewegungen begleitete, unregelmäßige Lateralbewegung. Abb. 1 zeigt eine mittels Zeichentubus nachgezeichnete Bahn eines Punktes am hinteren Zellende.

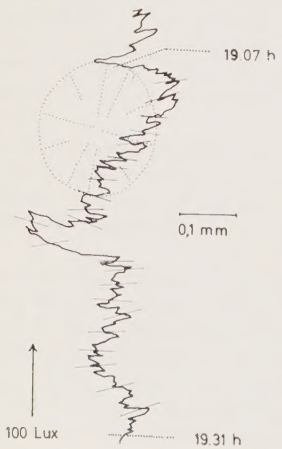

Abb. 1. Bewegungsbahn eines Punktes am hinteren Zellende während 24 min. Die Teilstriche bezeichnen zeitliche Intervalle von je 1 min. Vergr. 150×.

3.2. Die Abbildung der Pendelbewegung durch die Kriechspur

Die angefärbte Spur zeigt, besonders deutlich bei Intensitäten, die für die Bewegung optimal sind, mehr oder weniger regelmäßige, mäanderförmige Schwingungen (Abb. 2 a und 2 b). Diese Schwingungen entsprechen bei *M. denticulata* den Pendelbewegungen. Bei optimaler Orientierung der Spuren zum Licht zeigten beide eine Periodendauer von ca. 6 bis 10 min. Beim Pendeln in flacher Lage reiben die Zellen bisweilen in der Höhe des Isthmus Spuren der Hüllgallerte ab, die später bogenförmig, synchron über den Auslenkungen der Spur stehen (Abb. 2 a). Der direkte Vergleich der Pendelbewegung mit der angefärbten Spur gelang aber nicht.

Im Gegensatz zu dieser fortan als Großschwingung (GS) bezeichneten Form zeigt die Spur meist noch eine viel kleinere Schwingung in sich selbst, die ihr ein rauhes Aussehen gibt (Abb. 2 b). Ob diese, als Kleinschwingung (KS) bezeichnete Form, den zeitlich in derselben Größenordnung beobachteten Ruckbewegungen entspricht, ist wegen ihrer Regelmäßigkeit unsicher. In bestimmten Fällen sind diese KS deutlich vergrößert: während und kurz nach der Zellteilung und vielleicht auch dann, wenn sich die Zellen etwas über das Substrat erhoben haben, z. B. bei Beleuchtung von oben (Abb. 2 c).

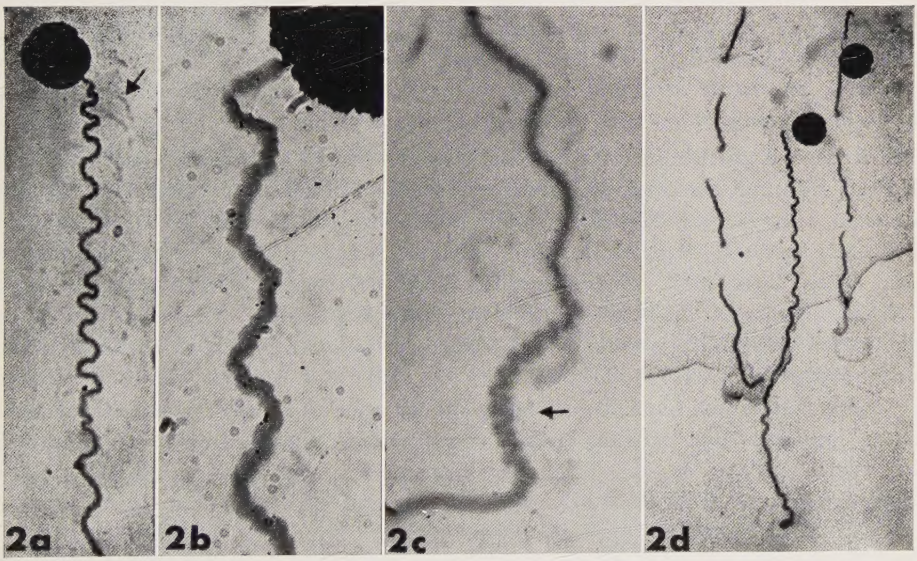

Abb. 2a) Die Auslenkungen der Zellen können durch bogenförmige Gallertspuren (↙) abgebildet werden.
2b) Die Bewegungsspur zeigt eine größere (GS) und eine kleinere (KS) Schwingungsform.
2c) Besonders große KS und das Fehlen des Schleimsaumes (←) deuten auf eine Bewegung der Zelle in vom Substrat abgehobener Lage.
2d) Hakenförmiger Verlauf der Spur zu Beginn kennzeichnet «falsche» Anfangslage der Zellen zum Licht. Überschlagende Zellen zeigen die Pendelbewegung weniger deutlich.

Denkbar wäre eine Entstehung der KS durch Verquellung der frisch abgesonderten Bewegungsgallerte auch in der Längsrichtung. Der Gallertfaden legt sich dadurch in Falten. Die Größe dieser Falten hängt dann, außer von der Schleimbeschaffenheit selbst, sowohl vom rückwärtigen Widerlager als auch vom Widerstand der sich bewegenden Zelle ab. Bei rasch erfolgendem Kontakt des gequollenen Schleimfadens mit dem Substrat (wenn das Hinterende der Zelle nahe am Substrat liegt) werden die Falten kleiner sein als bei abgehobenen Zellen, die sich rasch bewegen.

An der ruckartigen Zellbewegung könnte einerseits ein je nach der augenblicklichen Faltenlage wechselndes Widerlager, andererseits ein stoßweises Überwinden von Haftwiderständen durch die mit der Hüllgallerte dem Substrat flach aufliegenden Zellen beteiligt sein. Jarosch (1958) führt, ausgehend von Beobachtungen an Diatomeen, ruckartige Bewegungen auf die Elastizität der Kontaktsubstanz zurück.

Die regelmäßigen Schwingungen der Bewegungsspur von *Pleurotaenium*, die keine weitere, überlagerte Schwingungsform zeigte, dürften aber der Kreiselbewegung der Zelle entsprechen (vgl. Abb. 6). Ähnliche Spuren zeigen *Closterium* (Abb. 14 bei Kies 1964) und *Cosmarium*. Auch Schröder (1902) führt bei *Closterium* das «mannigfach gekrümmte Aussehen der Gallertstiele» auf die «Spiralbewegung» zurück. Doch scheint die letztere keine unbedingte Voraussetzung für die GS zu sein, denn bei Hemmung der freien Kreiselbewegung auf der Oberfläche von 0,5 %igem Agar zeigten die Kriechspuren von *Pleurotaenium* diese Schwingungsform zumindest noch angedeutet: Innerhalb einer ziemlich glatten Gallertspur von ungefähr doppelter Zellbreite schlängelte sich ein der angefärbten Spur vergleichbarer Kamm. Ähnliche Abbildungen gibt Czurda (1937) für *Cosmarium*.

3.3. Überschlagungen

Das Vorwärtsgleiten der Zelle kann bisweilen durch Polaritätsumkehr zwischen Vorder- und Hinterende unterbrochen werden. Das bisherige Vorderende heftet sich dann am Substrat fest, das bisherige Hinterende löst sich, hebt sich ab und wird – bei Bewegung im horizontal einfallenden Licht nach Drehung um eine horizontale Achse – zum neuen Vorderende. Bei diesem Überschlagen (Klebs, Aderhold), das durch die Neuorientierung der Zelle zum Licht verursacht wird, bewegt sich die Zelle ohne zu gleiten um eine Zellänge vorwärts. Während des Umpolens liegt sie im allgemeinen dem Substrat flach auf.

In der angefärbten Spur erscheint das Überschlagen als eine ca. eine Zellänge messende Spurlücke. Bei insgesamt geradliniger Fortbewegung der Zelle im einseitigen Licht zeigt sich das der Lichtquelle näher liegende Spurende dieser Lücke durch einen kleinen Haken verdickt (Abb. 2 d).

Diese asymmetrischen Lücken sind keine Artefakte, etwa durch Aufreißen einer polar gebauten Kriechspur beim Entleeren der Küvetten. Denn Lücken, die künstlich durch Aufreißen der Spur mit einer Nadel hervorgerufen wurden, zeigten kein solches Aussehen.

Der Haken dürfte einem geringfügigen, nicht direkt beobachteten Fortgleiten der Zelle von der Lichtquelle während der Zeitspanne zwischen Polaritätswechsel und Überschlagen entsprechen. Bei fehlender oder nur geringer Orientierung der Spur im Dunkeln oder im senkrecht von oben einfallenden Licht fehlt der Haken, der oft auch zu Beginn der Spur bei «falscher» Anfangslage der Zelle zum einseitigen Licht auf-

tritt (Abb. 2 d). Die Bewegung erfolgt dann nach dem Überschlagen zunächst in entgegengesetzter Richtung.

Entgegen der Einteilung ADERHOLDS in überschlagende, stark gekrümmte, und nicht überschlagende, schwach gekrümmte Desmidiaceen zeigten gerade die Spuren von *Pleurotaenium trab.* ein sehr häufiges Überschlagen an. Manche Zellen schienen sich hier fast nur durch Überschlagen fortzubewegen. Vor dem Überschlagen, das bei Direktbeobachtung nach 4 bis 6 min abgeschlossen war, legten sich die Zellen dem Substrat flach auf.

Auch das Vorkommen von Überschlagungen bei *Micrasterias* und dessen flache Lage auf dem Substrat während der Bewegung gegen horizontal einfallendes Licht stehen ADERHOLDS Einteilung und Annahme entgegen, die wenig gekrümmten Formen könnten bei flacher Lage auf dem Substrat haften bleiben.

3.4. Die ungefärbte Kriechspur

Die Beobachtung der unbehandelten Spur während der Zellbewegung gelang leider nicht. Das Phasenkontrastverfahren brachte, wohl wegen zu großer Schichtdicke, keine befriedigenden Ergebnisse. Bei Vitalfärbung oder Sichtbarmachung mittels Tusche sind physiologische Veränderungen zu erwarten (KOWALLIK 1965, CZURDA 1937, JAROSCH 1958).

Die *fertigen Kriechspuren* konnten jedoch unbedenklich in Tusche beobachtet werden. Sie zeigten hierbei und bei starker Xenonbeleuchtung im Dunkelfeld folgendes Aussehen: Dem Substrat direkt liegt oft in Zellbreite ein sehr dünner, später nur sehr schwach angefärbter Schleimsaum auf. Diesem wiederum sitzt als Kamm mit wechselnder Höhen- und Seitenlage die eigentliche Bewegungsgallerte auf. Auch bei Spuren auf der Agaroberfläche tritt der geschlängelte Kamm der «Stoßgallerte» deutlich in Erscheinung (CZURDA). Die Breite des Kammes entspricht ungefähr der Basis des Medianlappens der Zelle. Der Saum dürfte der dünnen Schleimschicht entsprechen, die von den Seitenwänden abgegeben wird (JAROSCH 1958). Er erscheint in der angefärbten Spur nur selten deutlich. Wenn er auftritt, kann ein Zusammenhang mit flacher Lage der Zellen auf dem Substrat angenommen werden: z. B. auch in Überschlagungslücken oder besonders deutlich oft zu Beginn der Spur (vgl. Abb. 2 d). Umgekehrt zeigt der Saum z. B. in Abb. 2 c dort eine Lücke, wo vergrößerte KS auf ein Abheben der Zelle deuten.

3.5. Artefakte

Artefakte entstanden beim Entleeren der Küvetten. Sie waren durch ihre Beziehung zur Entleerungsrichtung als solche erkennbar. Die Spuren von *M. denticulata* erwiesen sich hierbei aber, im Vergleich zu den übrigen untersuchten Arten, besonders *M. rotata,* als ziemlich stabil. Auf mögliche Spurverschiebungen bei jungen Zellen wurde oben schon hingewiesen. Bei *M. rotata* waren auch die Spuren der Normalzellen leicht verschiebbar. Die Verschiebung setzte dann meist an den hier häufigeren Überschlagungslücken ein, indem sich die Spurabschnitte zwischen den Lücken ganz oder teilweise verschoben. Die Ablösung ging dabei immer vom vorderen Ende des Abschnittes aus, während sich der Haken am hinteren Ende als ziemlich ortsfest erwies. Störend waren auch Zellverluste vor dem Antrocknen, da dann auch der Zellabdruck fehlte. Sie kamen gehäuft vor bei *M. rotata.* Bei höheren Intensitäten traten bisweilen girlandenartige Dehnungen und Aufrisse der Spur auf.

3.6. Lichteinfluß auf Großschwingungen und Überschlagungen

Die GS zeigten bisweilen einen deutlichen Zusammenhang mit der Lichtintensität. Sie traten bei den Intensitäten am regelmäßigsten auf, bei denen maximale Bewegung zum einseitig einfallenden Licht erfolgte (vgl. Neuscheler 1967). Im Bereich positiver Phototaxis nahm mit zunehmender Intensität die Amplitude ab und die Periodenzahl zu (Abb. 3).

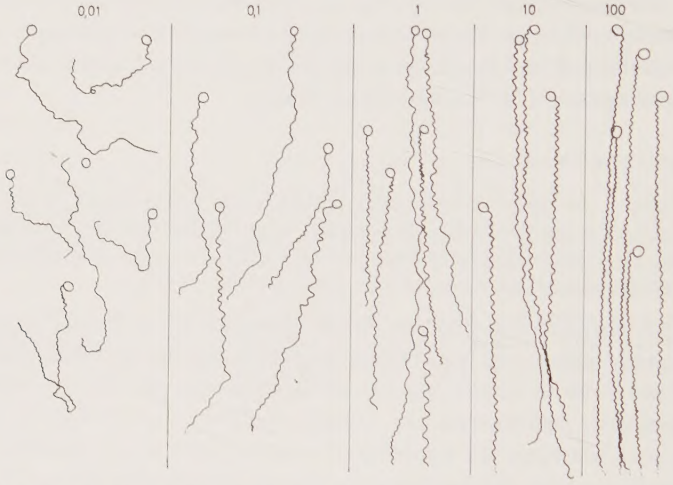

Abb. 3. Ausbildung der Spurschwingungen (GS) bei verschiedenen Intensitäten horizontal eingestrahlten Lichtes. 434 nm. Intensitätsangaben in erg/cm²sec. Vergr. 18×.

Eine exakte, quantitative Erfassung war aber wegen des unregelmäßigen Auftretens der Schwingungen nicht möglich. Häufig traten die Schwingungen erst nach einer gewissen Zeit deutlich in Erscheinung (vgl. Abb. 2 d). Bei Steigerung der Intensität über das Optimum wurden die GS zunächst undeutlich. Bei sehr hohen Intensitäten (50 000 Lux, Bereich negativer Phototaxis) traten sehr unregelmäßige, oft gezackte Schwingungen auf, die nicht mit denen bei positiver Phototaxis vergleichbar waren. Bei positiver Phototaxis scheint die Periodenzahl innerhalb einer Küvette ziemlich konstant zu sein, unabhängig von der Geschwindigkeit der Einzelzelle. Die längeren Spuren zeigen die Schwingungen weiter auseinandergezogen.

Das Auftreten der Überschlagungen scheint außer von der Art und der Disposition der Zellen auch etwas vom Licht beeinflußt zu werden: Bei *M. denticulata* traten Überschlagungen selten, dann aber bevorzugt bei niedrigen Intensitäten auf. Innerhalb derselben Küvette waren Spuren mit Überschlagungen oft kürzer und schwingungsärmer (vgl. Abb. 2 d). Ein Einfluß der Temperatur auf die Häufigkeit der Überschlagungen, wie ihn Stahl für *Closterium moniliforme* angibt, konnte bei *M. denticulata* nicht festgestellt werden.

4. Die Orientierung der Zelle im einseitigen Licht

4.1. Polarität

Die schon bei der Bewegung im Dunkeln bestehende Polarität zwischen freiem Vorder- und angeheftetem Hinterpol bestimmt offensichtlich auch die Orientierung im einseitig einfallenden Licht; denn beim Übergang der Zellen vom Dunkeln zum Licht wurde kein Überschlagen beobachtet. Dies gilt auch bei Bestrahlung senkrecht von unten her. Während sich die Zellen bei Beleuchtung von oben aufstellen, legen sie sich hier flach auf das Substrat (vgl. Abb. 8).

Bei *Closterium moniliforme* dagegen legt sich nach den Beobachtungen Stahls bei Beleuchtung von unten das vorher freie Vorderende dem Substrat auf, während sich das vorherige Hinterende vom Substrat abhebt.

Normalerweise richtet sich also bei positiver Orientierung die freie Halbzelle der Lichtquelle entgegen, während sie sich bei negativer Orientierung von ihr abwendet. Dieser Zusammenhang wird auch bei der Polaritätsumkehr während des Überschlagens beibehalten.

In einem bestimmten Entwicklungsstadium der Zellen, unmittelbar vor der Einleitung der Zellteilung, kann der Orientierungssinn der Zellen zum Licht bei insgesamt geringerer Reaktion während weniger Stunden umgekehrt sein: Bei im übrigen positiv phototaktischer Orientierung reagieren diese Zellen, wie auch Bendix beobachtete, negativ. Da sich solche Zellen im Intensitätsbereich negativer Phototaxis dann gerade positiv orientieren, kann die Umkehrung nicht als Stimmungsverschiebung gedeutet werden.

Hier wäre vielleicht auch einzuordnen das bei *Pleurotaenium* und *Cosmarium* über weite Intensitätsbereiche beobachtete gleichzeitige Vorkommen streng positiver und negativer Zellen innerhalb einer Küvette. Allerdings traten hierbei auch Zellen auf, deren Orientierungssinn sich während des Versuches umgekehrt hatte.

Da jede Desmidiaceenzelle aus einer älteren und einer jüngeren Hälfte besteht, ist es nicht verwunderlich, wenn dieser, bei jungen Zellen noch größere Unterschied auf die Polarität der Zellen einen gewissen Einfluß ausübt, der offenbar je nach Art verschieden groß ist. Nach Braun (1850) orientiert sich *Penium curtum* im allgemeinen mit der jüngeren Zellhälfte gegen das Licht. Bei *M. denticulata* trat dieser Unterschied nur während der ersten zwei Tage nach der Zellteilung in Erscheinung: Junge Zellen orientierten sich im Dunkeln und im horizontal einfallenden Licht nach der Zelltrennung vorwiegend mit der jungen Halbzelle nach vorne. Diese kann in vivo an ihrer helleren Färbung und im angefärbten Spurenbild noch mehrere Tage lang an ihrem heller angefärbten Gallertabdruck erkannt werden (Abb. 4).

Unmittelbar nach der Trennung der Tochterzellen erfolgte dabei ein Überschlagen der vorderen in der Bewegungsrichtung liegenden Zelle. Bei Verwendung von Agar (0,5 %ig) als Substrat wurden dagegen die Zellen von *M. denticulata* nur mit der älteren Zellhälfte nach vorne gerichtet beobachtet. Die hintere Tochterzelle vollführte dabei im einseitigen Licht nach der Zelltrennung einen Bogen; denn der dünne, die Zelle überziehende Flüssigkeitsfilm läßt ein Überschlagen in der Bewegungsrichtung nicht zu.

4.2. Lichtdrehung

Drehung der Lichtrichtung um 180° kann eine Polaritätsumkehr, ohne gleichzeitige Änderung der Dorsiventralität der Zelle, auslösen. Meist jedoch wenden die Zellen nach dem Umkehren der Lichtrichtung um 180° auf dem bisherigen Hinterende durch Drehung um eine horizontale Achse, ähnlich wie beim Überschlagen. Die Wendung war bei den reaktionsfähigsten Zellen 3 bis 10 min nach dem Wechsel der Lichtrichtung abgeschlossen. Die entsprechenden Kriechspuren zeigten am Wendepunkt im ersten Fall eine Lücke, im zweiten Fall eine Schlaufe. Bei periodischer Umschaltung der Lichtrichtung alle 15 min wurden auch diese Phasen durch die Spur noch abgebildet.

Nach Drehung der Lichtrichtung um 90° erfolgte die Zelldrehung um die vertikale Achse: Sie begann nach 2 bis 3 min und war 6 bis 10 min nach Lichtdrehung abgeschlossen. Auch eine eingeschobene Kurzperiode von 7,5 min Dauer wurde in der Spur noch abgebildet. Eine Neuorientierung um 90° zeigten auch solche Zellen, die, ohne eine Ortsbewegung zu zeigen, auf der Kante (exakter: Hinterpol) stehend, mit der Fläche senkrecht zur Lichtrichtung orientiert waren (vgl. Kap. 5). Daraus geht hervor, daß eine Orientierung zum Licht auch ohne Ortsbewegung möglich ist. Die Neuorientierung um 90° erfolgte bei *M. denticulata* sowohl in Flächen- als auch in Kantenstellung unter kleinen Ruckbewegungen, bei *Pleurotaenium* unter Fortsetzung der Kreiselbewegung.

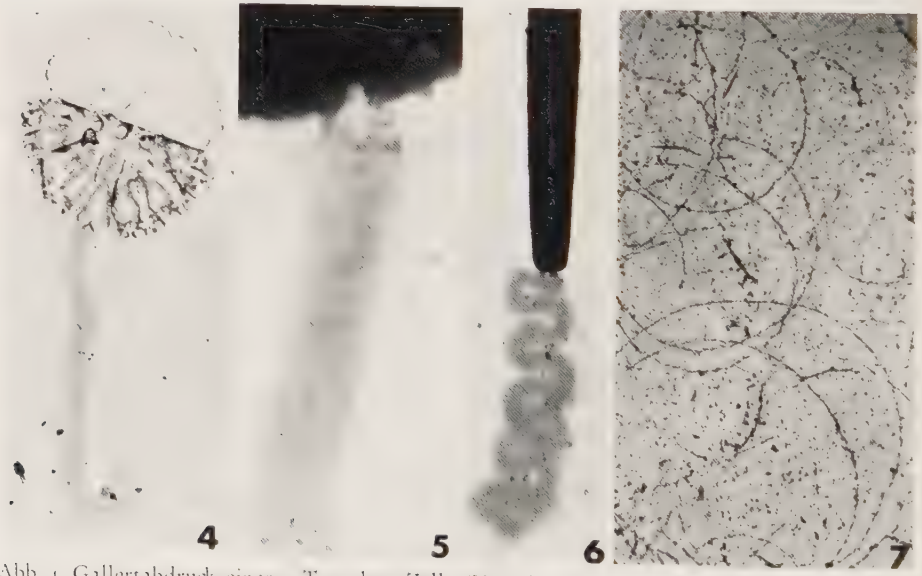

Abb. 4. Gallertabdruck einer 1 Tag alten Zelle (Vormittag), nach Ablösen der Zelle mit einer Nadel. Der dunklere Abdruck bezeichnet die ältere Zellhälfte.
Abb. 5. *Micrasterias denticulata*. Ansatz der Kriechspur am hinteren Zellende.
Abb. 6. *Pleurotaenium trabecula*. Ansatz der Kriechspur.
Abb. 7. *Closterium rostratum*. Kreisförmige Kriechspuren am Boden der Kulturschale (sichtbar durch anhaftende Erdpartikelchen).

4.3. Richtungssteuerung

Eine gleichzeitige Schleimabsonderung an beiden Zellpolen wurde bei den untersuchten Arten niemals beobachtet. Sie ist durch die Polarität der Zelle offensichtlich ausgeschlossen. Die Fortbewegung der Zellen erfolgte auf die Dauer immer nur in Richtung der Zellängsachse.

Als Mechanik der Richtungssteuerung ist eine verschiedene Gallertsekretion durch die Poren am hinteren Zellpol denkbar. KLEBS, der den Ansatz der Bewegungsgallerte am Hinterende von *Closterium didymotocum* in Form zahlreicher Fädchen beobachtete, entwickelte für das Zustandekommen der Kreiselbewegung der Closterien ein diesbezügliches Anschauungsmodell. Dabei weist er dem abgesonderten Schleim allerdings auch Zugkräfte zu! Angefärbte Zellen von *M. denticulata* und *Pleurotaenium* zeigten bisweilen deutlich, daß die Kriechspur von zwei durch die Symmetrieachse der Zelle getrennte Porengruppen in der Mitte des hinteren Medianlappens abgesondert wird (Abb. 5 und 6).

5. Der Anstellwinkel der Zelle zur Substratfläche

Über die Faktoren, die den Anstellwinkel bestimmen, den die Längsachse gleitender Desmidiaceen mit dem Substrat bildet, finden sich in der Literatur widersprüchliche Angaben. Nach STAHL und BENDIX wird er durch den Lichteinfallswinkel bestimmt, nach KLEBS und ADERHOLD ist er jedoch artspezifisch festgelegt. Der artspezifische Eigenwinkel wird nach KLEBS, unter Zugrundelegung einer allgemeinen, vom Substrat wegweisenden Erhebungstendenz, durch die Tragfähigkeit des Gallertfadens bestimmt. ADERHOLD jedoch deutet den Eigenwinkel als diejenige Lage beim Fortgleiten, bei der die geringste Reibung erfolgt.

Eigene Beobachtungen unter Variierung der in Frage kommenden Faktoren deuten darauf, daß bei *M. denticulata* der Anstellwinkel zum Substrat in erster Linie von Richtung und Intensität des einfallenden Lichtes bestimmt wird.

5.1. Lichteinfallswinkel

Die am häufigsten beobachteten Zellagen bei verschiedenen Lichteinfallsrichtungen (je 100 Lux) sind in Abb. 8 schematisch zusammengestellt. Hierbei wurde teilweise auch die Orientierung solcher Zellen eingezeichnet, die auf der Unterseite des durch eine Gerade angedeuteten Deckglases aufgebracht worden waren.

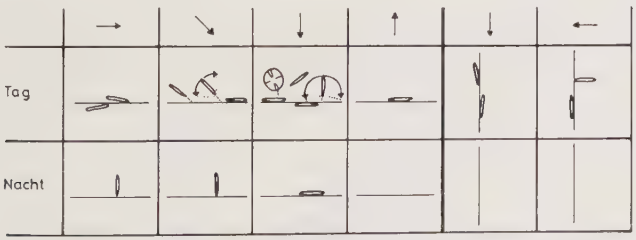

Abb. 8. Zellage zur Licht-, Substrat- und Schwerkraftrichtung bei 100 Lux. Schematisch. Die Pfeile in der oberen Zeile bezeichnen die Lichtrichtung.

Auf horizontalem Substrat bewegten sich die Zellen bei horizontalem Lichteinfall auf beiden Seiten des Deckglases flach dem Substrat aufliegend oder bei einem bis höchstens 5° angestellten Vorderende gegen das Licht. Bei einer Lichteinfallsrichtung von 45° schwankte der Anstellwinkel von 0 bis 90°, unter Bevorzugung kleinerer Winkel als 45°. Bei senkrechter Beleuchtung von oben erhoben sich die Zellen z. T. bis mehrere Zellängen über das Substrat und pendelten am oberen Ende des offenbar ziemlich starren Schleimfadens um eine vorwiegend horizontale Achse. Der Anstellwinkel schwankte hierbei im Bereich von 0 bis 90° unter Bevorzugung der Steillagen. Zwischendurch senkten sich die Zellen zum Substrat ab, wo sie sich neu anhefteten oder seltener überschlugen. Zeitweise bewegten sich die Zellen hier auch in annähernd horizontaler Lage.

Bei senkrecht gestelltem Substrat erfolgte im Licht keine grundsätzlich andere Zellorientierung als bei horizontalem Substrat. Im Dunkeln jedoch wurde in Übereinstimmung mit Klebs und Gerhardt öfters eine negativ geotaktische Orientierung der Spuren festgestellt, die nicht durch Aerotaxis vorgetäuscht werden konnte.

Kriechspuren von Zellen, die sich auf vertikalem Substrat gegen das von oben her einfallende Licht bewegt hatten, zeigten auffallend deutliche GS, vielleicht durch die hierbei labilere Lage der gegen Wasser schwereren Zellen.

Zellen, die am vertikalen oder unterseits am horizontalen Substrat hafteten, konnten nach einiger Zeit den aktiven Kontakt zum Substrat verlieren; sie sanken dann, unabhängig von der Beleuchtungsrichtung, an einem langen Schleimfaden hängend, nach unten ab.

5.2. Lichtstärke und Tageszeit

Bei horizontalem Lichteinfall zeigte sich in dem Intensitätsbereich, der zwischen den für positive und negative Phototaxis jeweils optimalen Intensitäten liegt, ein Zusammenhang zwischen dem Orientierungssinn der Kriechspur und der Anstellage der Zellen zum Substrat bzw. Lichtrichtung. Bei für positive Phototaxis optimaler und bei niedrigerer Intensität lagen die Zellen flach am Boden, in der Indifferenzzone der Phototaxis zwischen 1000 und 10 000 Lux dagegen vorwiegend mit dem Lichte zugekehrter Breitseite auf Kante, während sie bei noch höheren Intensitäten wieder flach lagen, dann aber mit dem freien Vorderende von der Lichtquelle abgewandt. Nachts verschiebt sich die Indifferenzzone etwas gegen niedrigere Intensitäten, dann tritt auch bei 100 Lux schon häufiger Kantenstellung auf (Abb. 8), während bei 10 000 Lux dann schon der Übergang zur Flächenstellung, mit von der Lichtquelle abgewandtem Vorderende, erfolgte (der Einfluß von Lichtintensität und Tageszeit auf Phototaxis und Bewegungsgeschwindigkeit wird bei Neuscheler 1967 näher untersucht; vgl. dort Abb. 3). Die Stellung der Zellen innerhalb der Indifferenzzone wird von der Licht-, nicht von der Substratrichtung bestimmt; denn bei vertikalem Lichteinfall lagen die Zellen wiederum mit der Fläche senkrecht zur Lichtrichtung.

Nach Stahl, der schon die zur Lichtrichtung senkrechte Stellung für *Micrasterias* beschreibt, dient den Zellen bei horizontalem Lichteinfall dabei eine beliebige Kante als Stütze. Aber auch in solcher Lage sind die Zellen nur mit dem vom Hinterpol ausgehenden Gallertfaden am Substrat befestigt. Denn bei höheren Intensitäten heben sich die Zellen häufig zeitweise vom

Substrat ab und können, nach seitlichem Abrutschen aus solcher Lage, mit einem vom Hinterpol etwas entfernteren Ort der Zellkante auf dem Substrat zum losen Aufsitzen kommen. Solche Zellen könnten, zumal wenn sie bei leichter Erschütterung der Küvette etwas an ihren freien Gallertfäden hin- und herpendeln bzw. -rollen, ADERHOLD zu der Meinung veranlaßt haben, *Micrasterias* rolle bisweilen *aktiv* wie ein Rad auf seinen Zähnen, von Mittelfeld zu Mittelfeld fortschreitend.

5.3. Zellage und Bewegungsgeschwindigkeit

Für die Ermittlung der Anstellage einer größeren Zellzahl wurde eine halbquantitative Methode benutzt. Sie gründet auf der Projektion der scheibenförmigen Zellen in die Substratebene.

Hierzu wurde die betreffende Küvette fotografiert, indem ein vorsichtig unterschobenes Fotopapier durch eine punktförmige Lichtquelle über der Küvette belichtet wurde. Zur Verbesserung der Abbildungsschärfe besaß die im Durchschnitt mit n = 120 Zellen beschickte Küvette einen Deckglasboden. Die Auszählung erfolgte nach drei Klassen: a = Flächenlage, c = Kantenstellung, b = Zwischenstufen. Als grober Parameter diente dann der Flächenwert

$$F = \frac{2a + b}{2n} \cdot 100\,\%.$$

Abb. 9 zeigt den ungefähr gleichsinnigen Tagesgang von Geschwindigkeit und Flächenlage bei 110 Zellen im einseitigen Dauerlicht von 100 Lux. Horizontale Einstrahlung von 5 Lux führte dagegen, trotz starker Bewegungsrhythmik, zu keiner rhythmischen Verringerung der ständig hohen Flächenlage. Vorwiegend vertikale Einstrahlung von ca. 700 Lux, wie sie während der Kultur erfolgte, führte zu einem Minimum der Flächenlage am Mittag und zu einem Maximum bei Nacht (Abb. 10).

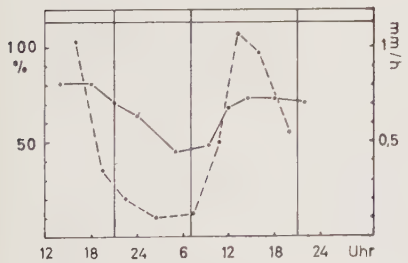

Abb. 9

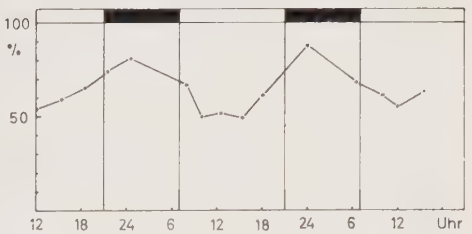

Abb. 10

Abb. 9. Zellage (————) und Bewegungsgeschwindigkeit (– – – –) im einseitigen Dauerlicht von 100 Lux, in Abhängigkeit von der Tageszeit (Abszisse). Ordinate: Flächenwert in % bzw. Bewegungsgeschwindigkeit in mm/h.

Abb. 10. Zellage bei vorwiegend vertikaler Einstrahlung während der Kultur, in Abhängigkeit von der Tageszeit (Abszisse). Ordinate: Flächenwert in %. Die schwarzen Balken bezeichnen die Dunkelperiode.

Während also bei positiver und negativer Orientierung rasche Fortbewegung der Zellen vorwiegend in Verbindung mit substratparalleler Lage der Zellen auftrat, wurde aber umgekehrt die Flächenlage auch von mehr oder weniger bewegungslosen

Zellen eingenommen. Beispiele hierfür bildeten Zellen bei vertikaler Einstrahlung von 1000 Lux, bei horizontaler, nächtlicher Einstrahlung von 5 Lux und solche Zellen, die längere Zeit verdunkelt worden waren. Bei den beiden letzten Beispielen stellt die Flächenlage die passiv eingenommene, stabilste Lage dar.

6. Diskussion

Es gibt verschiedene Deutungsmöglichkeiten für die Beziehung zwischen der Orientierung und den bei horizontaler Lichteinstrahlung auftretenden Pendelschwingungen der Bewegungsspur:

1. Die Zellen geraten passiv durch Ungleichmäßigkeiten des Substrats und der Schleimquellung aus der Lichtrichtung ab. Der Auslenkung folgt alsbald durch die orientierende Wirkung des Lichts eine über das Ziel hinausschießende Korrekturbewegung. – Für eine solche Deutung erscheinen die GS nun aber doch oft zu regelmäßig. Außerdem nimmt die Periodenzahl auch über das Optimum der Orientierung hinaus noch zu. Auch die Bewegungsspuren im Dunkeln erscheinen hierfür zu wenig verworren.

2. Die Schwingungen stellen eine aktive, durch das Licht stimulierte Lichtsuchbewegung der Zellen dar. – Gegen eine solche, den Flagellaten vergleichbare Orientierungsweise, spricht aber, daß eine Orientierung der Spuren bzw. Zellen zur Lichtrichtung auch bei GS-losen Spuren bzw. nichtpendelnden Zellen vorkommt: Auf den Anfangsabschnitten der Spuren, bei Bewegung auf oder im Agar (vgl. auch Pringsheim 1912), bei nichtpendelnden Teilungszwillingen und bei auf der Kante stehenden Zellen ohne Ortsbewegung. Andererseits kommen aber deutliche GS auch bei schräg zur Lichtrichtung verlaufenden Spuren vor. Zudem wurden photophobotaktische Reaktionen (wie sie eine nach dem Prinzip von Versuch und Irrtum erfolgende Orientierungsweise erfordern würde) auch bei plötzlicher Änderung der Lichtintensität nicht beobachtet. Auch in der Literatur finden sich hierüber keine eindeutigen Beobachtungen.

Klebs fand bei einem im übrigen verdunkelten Kulturzylinder an einem sternförmigen Ausschnitt nach mehrtägiger Beleuchtung eine grüne, sternförmige Ansammlung. Hierbei dürfte es sich aber in Anbetracht der hohen photo*topo*taktischen Empfindlichkeit (vgl. Neuscheler 1967) um eine durch Streulicht verursachte, topotaktische Ansammlung handeln.

Auch bei den langgestreckten Formen, deren Kreiselbewegung mit der Pendelbewegung von *Micrasterias* allerdings nicht sicher zu homologisieren ist, schließt die Möglichkeit einer lichtparallelen Zellorientierung auf und in Agar (0,25–0,5 %ig) eine maßgebliche Beteiligung der Kreiselbewegung am Zustandekommen der Orientierung aus. Dem steht die bei *Pleurotaenium* beobachtete Fortsetzung der Kreiselbewegung während der Neuorientierung der Zelle um 90° nicht entgegen.

3. Die intensitätsabhängige, bei langsamen und schnellen Zellen konstante Periodenzahl weist vielmehr auf eine aktive, lichtstimulierte Bewegungsform. Nach Schröder ermöglicht die «Spiralbewegung» den Closterien das Vorbeigleiten an Hindernissen, vergleichbar den Bewegungen einer wachsenden Hyazinthenwurzel. Diese Deutung erscheint auch für die Pendelbewegung von *Micrasterias* sinnvoll.

Auf Grund der vorliegenden Versuche kann noch nicht entschieden werden, ob und welches der bisher bekannten Prinzipien der statischen Lichtrichtungsmessung (Haupt 1965) für die Orientierung bei *Micrasterias* zutrifft.

Die Ergebnisse weniger Versuche im polarisierten Licht, wobei sich die Orientierung sowohl bei horizontaler als auch bei vertikaler Einstrahlung unabhängig von der Polarisationsebene zeigte, können noch nicht als gesichert betrachtet werden.

Die Polaritätsumkehr hat, wegen der guten Steuerfähigkeit der Zellen, für die phototaktische Reaktion von *Micrasterias* keine Bedeutung, im Gegensatz zu den Blaualgen des *Phormidium*-Typs und den Diatomeen (Nultsch 1956). Aber auch bei den Desmidiaceen scheint unter gewissen Bedingungen noch diatomeenähnliche Bewegung und Orientierung vorkommen zu können. *Pleurotaenium* zeigte bei behinderter Manövrierfähigkeit auf Agar eine erst allmählich erfolgende Ausrichtung der Spuren in die Lichtrichtung, unter Einsatz der Polaritätsumkehr.

In Kulturschalen von *Closterium rostratum* fanden sich nach 2–3 Tagen kreisförmige Bewegungsspuren (Abb. 7). Bei einseitiger Beleuchtung scheint die Phototaxis in einer dem *Amphora-* bzw. *Nitzschia*-Typus der Diatomeen (Nultsch 1956) ähnlichen Weise zu erfolgen. Czurda gibt eine entsprechende Abbildung (p. 33) für die Bewegung von *Closterium acerosum* auf der Agaroberfläche. Bei Bewegung in Flüssigkeit zeigte *Closterium* dagegen geradlinige, gegen die Lichtquelle weisende Spuren. Die kreisförmige Bewegungsweise der Closterien bei flacher Lage der Zellen auf der Substratfläche hängt wohl, ähnlich wie bei den Diatomeen, mit der asymmetrischen Verteilung von Antriebs- und Reibungskräften zusammen.

Literatur

Aderhold, R.: Z. Naturwiss. *22* (N. F. *15*), 310–342 (1888).

Braun, A.: Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur, insbesondere in der Lebens- und Bildungsgeschichte der Pflanze. Freiburg/Br. 1850.

Czurda, V.: Conjugatae. In: Hdb. Pflanzenanatomie, II. Abt., VI, 2, B, b. Berlin 1937.

Gerhardt, K.: Diss. Jena 1913.

Haupt, W.: Die Phototaxis der Algen. In: Hdb. Pflanzenphysiol. *17*, I, 318–370. Berlin 1959.

– Naturwiss. Rundschau *18*, 261–267 (1965).

Jarosch, R.: Protoplasma *50*, 277–289 (1958).

Klebs, G.: Biol. Zentralbl. *5*, 353–367 (1885).

Kiermayer, O.: Protoplasma *59*, 76–132 (1965).

Kies, L.: Archiv Protistenkde. *107*, 331–350 (1964).

Kowallik, K.: Protoplasma *60*, 243–301 (1965).

Neuscheler, W.: Z. Pflanzenphysiol. *57*, im Druck (1967).

Nultsch, W.: Archiv Protistenkde. *101*, 1–68 (1956).

Pringsheim, E. G.: Beitr. Biol. Pflanzen *11*, 305–333 (1912).

Schröder, B.: Untersuchungen über die Gallertbildungen bei Algen. Heidelberg 1901.

Stahl, E.: Bot. Ztg. *38*, 297–413 (1880).

Waris, H.: Physiol. Plant. *6*, 538–543 (1953).

Dr. W. Neuscheler, Botanisches Institut, 852 Erlangen, Schloßgarten 4.

Nicht einzeln im Buchhandel! *Überreicht vom Verfasser*

Sonderdruck aus
Zeitschrift für Pflanzenphysiologie
Band 57, Heft 2, Seite 151–172 (1967)
Gustav Fischer Verlag Stuttgart

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

Bewegung und Orientierung bei *Micrasterias denticulata* Bréb. im Licht

II. Photokinesis und Phototaxis*)**)

W. Neuscheler

Mit 12 Abbildungen

Eingegangen am 6. Oktober 1966

Summary

Motion and orientation in Micrasterias denticulata Bréb. as influenced by light. II. Photokinesis and Phototaxis

The speed of motion and the degree of orientation caused by the light intensity and its direction were studied by measurement of the length and direction of the dyed traces of the moving cells.

1. A pronounced daily rhythm was found in the cells' speed of motion, their ability of orientation and in the ratio of the efficiencies of red and blue light applied as two crossed beams.
2. In the positive phototactic response, the speed of motion was highest (2–3 mm/h) during the noon-time, lowest in the early morning. The tresholds of the initiation of the photokinesis and of the phototaxis were found during the night to be 100-times higher than during the day.
3. The actual phototactic treshold for white incandescent light was found to be at about 10^{-4} lux, for the blue at about 10^{-3}, and for the red $\leqq 10^{-3}$ erg/cm² sec.
4. If irradiated from two light sources at 90 degrees, the cells respond according to the «Resultantengesetz» if the two sources are spectrally identical; however this is not true for blue *versus* red.
5. The phototopotactic action-spectrum (using 666 nm as reference wave-length) shows two peaks, one in the red region (650–666 nm), the other one in the blue region (370–470 nm) of the spectrum. Since the efficiency of blue and red relatively to each other differs enormously depending on the light intensity and on a diurnal rhythm, it is inferred that two primary photoreactions are involved in the response.

Zusammenfassung

Auf Grund von Länge und Richtung der angefärbten Kriechspuren wurden die Bewegungsgeschwindigkeit und der Orientierungsgrad in Beziehung zur Richtung und Intensität des Lichtes untersucht.

1. Hierbei zeigten die Bewegungsgeschwindigkeit, der Orientierungsgrad und das Wirkungsverhältnis von Rot- und Blaulicht bei zweiseitiger Einstrahlung im rechten Winkel eine deutliche Tagesschwankung.

*) Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung Volkswagenwerk.

**) Zweiter Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

2. Die Bewegungsgeschwindigkeit hatte bei positiver Phototaxis das Maximum (mit 2–3 mm/h) in den Mittagsstunden, das Minimum in den frühen Morgenstunden. Bei Nacht lagen die Nullschwellen der Photokinesis und der Phototaxis etwa 100× höher als tags.
3. Die Schwelle für die Phototaxis lag bei Tage sehr niedrig: im Weißlicht bei 10^{-4} Lux, im Blau bei 10^{-3}, im Rot unter 10^{-3} erg/cm²sec.
4. Bei Bestrahlung mit zwei Lichtquellen unter einem rechten Winkel erfolgte die Orientierung bei gleichfarbiger Einstrahlung entsprechend dem Resultantengesetz, nicht aber bei Einstrahlung von Blau gegen Rot.
5. Das Wirkungsspektrum der Phototopotaxis (Bezug 666 nm) zeigt je ein Maximum im langwelligen (650–666 nm) und im kurzwelligen Bereich (370–470). Aus der unterschiedlichen Intensitätsabhängigkeit und dem tagesperiodisch schwankenden Wirkungsverhältnis beider Spektralbereiche wird auf verschiedene Primärprozesse geschlossen.

1. Einleitung

An der Ortsveränderung freibeweglicher Organismen in Beziehung zur Lichtrichtung können zwei verschiedene Lichtwirkungen, die Orientierungsreaktion und die Photokinesis, beteiligt sein (Luntz 1931, Mainx und Wolf 1939). In früheren Arbeiten wurden beide Begriffe oft nicht scharf getrennt. So verwenden Hygen (1938) und Bendix (1957) als Parameter der phototaktischen Reaktion die Ortsveränderung der Zellen in Beziehung zur Lichtrichtung. Hygen, der auch die älteren Autoren zitiert, wollte hiermit allerdings nur den Nachweis einer phototaktischen Reaktion bei Desmidiaceen erbringen. Bendix jedoch gründet auf der Geschwindigkeit dieser «lichtstimulierten» Bewegung sogar ein Wirkungsspektrum der Phototaxis.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher versucht, den Einfluß des Lichtes auf die Bewegung, in Phototopotaxis (Orientierung) und Photokinesis getrennt, zu untersuchen.

Die Bewegungsgeschwindigkeit kann aus der *Länge* der von der Zelle in einer bestimmten Zeitspanne beschriebenen Bewegungsbahn bestimmt werden, die Orientierung aus deren *Richtung*; denn die Orientierung der Bewegung zum Licht hat die Orientierung der Zelle zur Voraussetzung (vgl. Neuscheler 1967). Die Bewegungsbahn wird bei den Desmidiaceen durch die während der Fortbewegung auf der Unterlage abgeschiedene Bewegungsgallerte (Krieger 1937) bezeichnet, die nach Anfärben sichtbar wird. Hiervon hatten schon frühere Autoren gelegentlich Gebrauch gemacht (Klebs 1885, Aderhold 1888, Gerhardt 1913, vgl. auch Neuscheler 1967).

Als Maß für die Intensität der Orientierungsreaktion wurde im folgenden in Anlehnung an Buder (1917) der Orientierungsgrad der Kriechspuren relativ zur Lichtrichtung benutzt. Er wurde im einseitig einfallenden Licht bestimmt. Im zweiseitigen, rechtwinkelig einfallenden Licht wurde aus der von den Zellen eingeschlagenen Richtung die relative Wirksamkeit zweier verschiedener Strahlungen ermittelt, woraus die Aufstellung eines Wirkungsspektrums der Orientierungsreaktion versucht wurde.

2. Allgemeine Methodik

Küvetten, Küvettengestelle. Als Versuchsgefäße dienten UHU-PLUS-geklebte Glasküvetten mit einer einheitlichen Seitenhöhe von 13 mm, aber mit je nach Versuchsanordnung verschiedenem Grundriß: 50 × 50 mm für zweiseitige, rechtwinklige Einstrahlung, 70 × 50 mm für

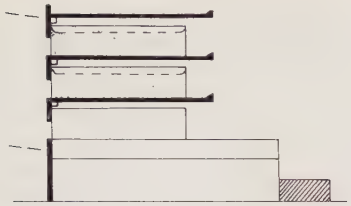

Abb. 1: Küvettenanordnung bei Versuchen im zweiseitigen Licht. Aufriß. In der obersten Küvette ist der Strahlengang eingezeichnet, der sich ohne Vorderblende ergeben würde.

einseitige Einstrahlung und 70 × 70 mm für langdauernde Rhythmikversuche. Die Seitenwände der Küvetten, mit Ausnahme der optisch benutzten Flächen, waren außen geschwärzt. Um störende Brechungen und Reflexe (Abb. 1) des in einem Winkel von 4–7° (Luft) gegen den Boden einfallenden Versuchslichtes auszuschalten, wurden vor den Küvetten schwarze Blenden angebracht, die den Lichteintritt nur bis zur Höhe von 7,5 mm über dem Boden gestatteten. Die Küvetten wurden mit soviel Lösung gefüllt, daß der Meniskus oberhalb der Unterkante der Blende lag. Um auch Reflexe von den Seitenwänden her auszuschalten, wurde bei den 70 × 50 mm Küvetten vorne seitlich je ein 1 cm breiter Streifen völlig abgeblendet. Außerdem wurde die Rückwand hier in einem Winkel von 45° zum Boden angeordnet. Die Küvetten wurden während der Versuche nicht abgedeckt, um Wärmestau und Streulicht zu verhindern.

Bei den Versuchen im zweiseitigen, rechtwinkligen Licht wurden jeweils drei 5 × 5 cm Küvetten gleichzeitig, in einem Gestell voneinander unabhängig übereinanderstehend, bestrahlt (Abb. 1). Dieses konnte während der Intensitätseinstellung gegen die Thermosäule oder das Photoelement ausgewechselt werden. Die Abmessungen waren so gewählt, daß der Ort der Mitte der Empfängerfläche der Thermosäule bzw. des Photoelements jeweils der Mitte der mittleren Küvette nach beiden Lichtrichtungen hin entsprach. Diese Anordnung ermöglichte einerseits rasch aufeinanderfolgende Messungen nach beiden Lichtrichtungen, andererseits gewährleistete sie die exakte Ausrichtung des Küvettengestells mit einem Handgriff auch bei schlechter Beleuchtung.

Versuchsräume. Die Versuche wurden vorwiegend in einem Raum mit geschwärzten Wänden durchgeführt, der während der Versuche auf 22 ∓ 2° C konstant gehalten wurde. Das filterfremde Streulicht der Projektoren, die innerhalb des Raumes aufgestellt werden mußten, wurde so weit als möglich abgeschirmt. Tagesperiodische Versuche wurden in einer schwarzen Bestrahlungskammer bei 22° C durchgeführt. Die Projektoren befanden sich hier außerhalb des Raumes.

Lichtquellen. Als Lichtquellen dienten regelbare Niedervoltlampen oder Dia-Projektoren mit 300 Watt Glühlampen. Für höhere Intensitäten ab 10 000 Lux bzw. 1000 erg/cm²sec und für Versuche im UV $\leqq$ 404 nm wurde ein Xenon-Hochdruckbrenner XBO 162 in der Universalmikroskopierlampe der Fa. Wild benutzt. Die Wärmestrahlung der Lampen wurde mit je einem zusätzlichen Wärmeschutzfilter KG 1 (Schott) von mindestens 3 mm Stärke oder durch eine 3–5 cm starke Wasserschicht (ausgenommen im UV) abgeschirmt.

Filter. Monochromatisches Licht wurde mit Interferenzfiltern (Schott), die den Projektoren vorgeschaltet wurden, erzeugt. Im sichtbaren Bereich wurden Doppelbandfilter (DAL) mit Halbwertsbreiten von 15–20 nm und maximaler Durchlässigkeit von 25–30 % eingesetzt. Im ultravioletten Bereich ($<$ 395 nm) wurden UV-Linienfilter (UV-IL) mit Halbwertsbreiten von 10–12 nm und maximaler Durchlässigkeit von ca. 40 % benutzt (Transmissionsmaxima siehe Abb. 12).

Intensitätsmessung. Alle Intensitätsangaben beziehen sich auf den Ort der Küvettenmitte, senkrecht zur Lichteinfallsrichtung gemessen. Mögliche Verluste durch Reflexion und Absorption wurden hierbei nicht berücksichtigt. Im weißen Licht wurde ein Luxmeter, Modell UM (AEG) benutzt. Monochromatisches Licht wurde, da die Intensität für eine direkte Messung mit der Thermosäule meist nicht ausreichte, indirekt mit einem Photoelement (zugehörig zum Luxmeter K der Fa. AEG) gemessen. Dieses Photoelement war in Verbindung mit einem Multi-

flex-Galvanometer MG O (Lange) für die benutzten Interferenzfilter und Filterkombinationen gegen eine Großoberflächen-Thermosäule E 1 (Kipp und Zonen) geeicht. Diese war ihrerseits in Verbindung mit dem Multiflex-Galvanometer oder dem empfindlicheren Nullgalvanometer NG 1 (Knick) gegen eine Standardlampe geeicht. Auch das Photoelement war oft für die direkte Messung zu wenig empfindlich. Dann wurde bei höherer, noch meßbarer Intensität eingestellt. Danach wurden in den Strahlengang ein oder mehrere Neutralgläser eingeschaltet, deren spektrale Transmission zuvor ermittelt worden war. Für Messungen im UV wurde das Photoelement in Verbindung mit dem Anzeigeverstärker des «Milliluxmeters» (Lange) benutzt. Gegen Störlichteinfluß wurde dem Photoelement hier ein 2 mm starkes UG 5 (Schott) vorgeschaltet.

Die mehrfach wiederholten Vergleichsmessungen Standardlampe – Thermosäule – Photoelement unterscheiden sich voneinander bis zu 30 %. Die Ursachen hierfür liegen wohl in dem bei niedrigen Intensitäten besonders störenden Kriechen des vom Thermostrom erzeugten Galvanometerausschlags, in nicht ganz gleichmäßiger Ausleuchtung der verschieden großen Empfängerflächen, in filterfremdem Streulicht, verschiedener Farbtemperatur der Lichtquellen und nicht zuletzt in Netzschwankungen während der Messungen. Bei den Versuchen zur Orientierung im zweiseitigen Licht wurden die Intensitäten daher zu Beginn und zu Ende eines jeden Versuchs gemessen. Der Auswertung wurden dann die Mittelwerte beider Messungen zugrunde gelegt.

Intensitätsabstufung. Bei Versuchen, die sich gleichzeitig über größere Intensitätsbereiche erstreckten, erlaubten die Abmessungen des Raumes eine Abstufung der Intensität bis 1000 : 1 durch Variieren des Abstandes der Küvetten vom Projektor. Eine über die relative Intensität 1 hinausgehende Abschwächung bis 1/1000 wurde mittels Neutralgläsern (Schott), die den Küvetten jeweils direkt vorgeschaltet wurden, vorgenommen. Bei den relativen Intensitäten 1/100 und 1/1000 wurden die Küvetten mit schwarzem Papier gegen Streulicht abgeschirmt. Außerdem wurde bei den Versuchen mit zweiseitiger, monochromatischer Einstrahlung die Intensität noch in gewissen Grenzen durch Veränderung der Lampenspannung von 150 bis 220 Volt durch je einen Schiebewiderstand geregelt. Um den Einfluß der Farbtemperatur abzuschwächen, wurden zusätzlich zu den Interferenzfiltern im Blau ein 2 mm starkes BG 7, im Rot ein 2 mm starkes OG 3 benutzt. Im UV wurde die Intensität variiert durch Verstellen der vor der Streulichtscheibe befindlichen Leuchtfeldblende der Xenonlampe und durch eine mit ca. 1000 U/min umlaufende, verstellbare Sektorenblende.

Versuchsmaterial. Die Versuche wurden normalerweise mit asynchronem Zellmaterial durchgeführt, dessen Herkunft und Kultur bei Neuscheler (1967) beschrieben wird. Für einige spezielle Versuche wurde synchrones Material benutzt. Hierzu wurden die Zellen am Vorabend des Versuchstages als Teilungspaare ausgelesen. Für direkt miteinander zu vergleichende Werte innerhalb einer Versuchsreihe wurde das Material derselben Kulturschale entnommen. Es wurde jeweils am Vorabend des Versuchstages um 21 Uhr in neue Nährlösung umpipettiert und dann bis zum Beginn des Versuches bei 22° C dunkelgestellt. Zu tagesrhythmischen Versuchen dagegen wurde das Material tags dem Kulturkasten direkt entnommen. Für während der Dunkelheit angesetzte Versuche wurden die Zellen entsprechend schon um 21 Uhr entnommen und bei 22° C dunkelgestellt.

Versuchsansatz. Die Versuche wurden bei gedämpftem Licht angesetzt. Die Zellen wurden vor dem Einbringen in die Küvetten einmal umpipettiert, um sie von anhaftenden Schleimresten, die die spätere Auswertung erschwert hätten, zu befreien. Pro Küvette wurden in diffuser Verteilung 100–250 Zellen eingebracht, wenn die Versuche auf den Orientierungsgrad oder die Orientierungsrichtung ausgewertet werden sollten, 30–60 Zellen, wenn die Länge der Bewegungsspuren ausgemessen werden sollte. Sinngemäß wurde dann bei absoluter Dunkelheit angesetzt, wenn der Einfluß der vorausgegangenen Dunkelzeit auf die Dunkelbewegung untersucht werden sollte.

Gallertanfärbung. Zu Versuchsende wurden die Küvetten vorsichtig immer nach derselben Seite, senkrecht zu der erwarteten Bewegungsrichtung, entleert. Dabei blieben die Zellen selbst

und ihre während der Bewegung gebildeten Gallertspuren am Boden haften. Nach dem Antrocknen wurden die Spuren mit wäßriger Methylviolettlösung angefärbt. Durch das Trocknen wurde der Schleim am Glasboden fixiert; beim Eingießen der Farblösung konnte er dann nicht mehr verschoben oder weggespült werden.

Die von Hauptfleisch (1888), Schröder (1902) und Kinzel (1953) beobachtete Gallertkontraktion beim Anfärben hat, wohl durch die innere Mäanderform der Spuren bedingt (vgl. Neuscheler 1967), keinen Einfluß auf die meßbare Gesamtlänge der Spur. Dies und die Unempfindlichkeit gegen Schleimverschiebungen beim Entleeren der Küvetten wurde durch Vergleich des Spurenbildes mit Serienfotos sichergestellt, die zu verschiedenen Zeiten während ungerichteter Zellbewegung aufgenommen worden waren: Alle Zellpositionen lagen auf den später durch Anfärben sichtbar gemachten Spuren.

Junggeteilte Zellen, die als solche durch ihre nur schwach angefärbte jüngere Halbzelle (Klebs 1886) und durch ihre wesentlich langsamere Bewegung erkennbar waren, verschoben sich bisweilen beim Entleeren der Küvetten. Sie lagen dann im Spurenbild, ebenso wie beim Versuchsansatz miteingeschleppte, alte Schleimreste, parallel zur Entleerungsrichtung, und waren somit in ihrer Lage als Artefakte gekennzeichnet. Im Gegensatz zu *M. denticulata* und *Cosmarium spec.* verhielten sich die Gallertspuren von *M. rotata* beim Entleeren der Küvetten wesentlich labiler.

Küvettenreinigung. An Stelle des komplizierten, von Bendix angewandten Reinigungsverfahrens wurden die Küvetten mit Methanol von Methylviolett und dann mit «Pril»-Lösung von Fettspuren gereinigt. Anschließend wurde mit Leitungs- und destilliertem Wasser nachgespült. Ein Einfluß des Reinigungsverfahrens auf die Beweglichkeit konnte nicht festgestellt werden. Fettfreiheit erwies sich aber als Voraussetzung für das Haftenbleiben der Schleimspuren beim Entleeren der Küvetten.

Versuchszeit, -dauer. Wegen des starken Einflusses der Tageszeit wurden alle Versuche zur Kinesis und zur Orientierung im einseitigen Licht (mit Ausnahme der Vorversuche und der speziellen Versuche zur Tagesrhythmik) tags von 12–17 Uhr bzw. nachts von 0–9 Uhr durchgeführt. Versuche bei zweiseitiger Einstrahlung wurden mit einer jeweiligen Dauer von 3–4 Stunden in der Zeit von 9–22 Uhr durchgeführt.

3. Kinesis und Photokinesis

3.1. Ausmessung. Zur quantitativen Auswertung der Geschwindigkeit wurden die Spuren in einem Fotovergrößerer bei ungerichteter Bewegung 10fach, bei gerichteter Bewegung 5fach vergrößert und auf Papier nachgezeichnet. Die Länge der ungerichteten Spuren wurde dann mit einem Meßrädchen von 30 mm Umfang ausgerädelt. Die gerichteten Spuren konnten meist schon mit einem flexiblen Maßstab ausgemessen werden. Die Schwingungen der Kriechspuren (GS; vgl. Neuscheler 1967) wurden hierbei nicht berücksichtigt.

3.2. Häufigkeitsverteilung. Zellen, die zu Versuchsbeginn auf eine zum Lichteinfall senkrechte Startlinie aufgebracht worden waren, zeigten nach einigen Stunden eine meist etwas asymmetrische Häufigkeitsverteilung, die sich wegen schlecht- und unbeweglicher Zellen gegen die Startlinie verschleppte. Die Streuung der Geschwindigkeiten innerhalb einer Küvette war bei schlechter Bewegung und Orientierung größer als bei optimaler, der Variabilitätskoeffizient schwankte um 15–25 %. Synchrones Material brachte nur wenig günstigere Werte.

Um den Einfluß reaktionsträger Zellen und evtl. verstümmelter Spuren zu vermindern, wurden nur die schnellsten Zellen, 20 % der Gesamtzahl, gewertet. Die auf diese Weise erhaltenen Werte lagen bei ca. 130–150 % des aus allen Zellen ermittelten

Durchschnittswertes, bei großer Streuung (nächtliche Dunkelbewegung, Indifferenzzone) noch höher.

3.3. Vorversuche, Kinesis.

3.3.1. Medium. Bei Verwendung von destilliertem Wasser an Stelle von Nährlösung als Medium erfolgte, wohl durch stärkere Schleimquellung, die Bewegung fast doppelt so schnell. Die Anfärbbarkeit der Schleimspur wurde hierdurch aber stark vermindert.

Eine Steigerung der Geschwindigkeit – sowohl im Licht als auch im Dunkeln – wurde auch in solchen Küvetten beobachtet, die mit frisch abgekochter Lösung bis zum Rande gefüllt und dann mit einer Glasplatte und Vaseline abgedichtet wurden.

Abweichend von Czurda konnte bei *M. denticulata* kein Einfluß des pH-Wertes im Bereich pH 5–7 beobachtet werden.

3.3.2. Anlaufzeit. In Übereinstimmung mit Kol (1927) und Hygen zeigten Versuche, die mit rechtwinklig alternierender Bestrahlung von je 30 min durchgeführt wurden, daß die Zellen nach dem Einbringen in die Küvette nicht sofort mit der Bewegung zum Licht beginnen. Nach einer einige Minuten bis mehrere Stunden währenden Ruhezeit beginnt die Bewegung, die meist nach 1 bis 3 Stunden ihren jeweiligen Maximalwert erreicht. Hierbei handelt es sich wohl mehr um eine Folge des mechanischen Schocks beim Ansetzen des Versuchs, als um eine Lichtwirkung; denn nach dreistündiger Vorverdunklung der angesetzten Küvette setzte die Bewegung bei Belichtung sofort voll ein. In abgekochter Lösung und bei stark beweglichen Zellen scheint die Anlaufzeit kürzer zu sein. Auf die große mechanische Störanfälligkeit weisen auch Klebs, Kol und Krieger hin.

3.3.3. Zellalter. In Teilung befindliche und sehr junge Zellen bewegen sich langsamer (Bendix). Die jungen Zellen erreichten erst nach 1–2 Tagen die volle Reaktionsfähigkeit (vgl. Abb. 5). Andererseits sind auch alte, reservestoffreiche Zellen sehr reaktionsträge, weshalb Stahl und Aderhold für Untersuchungen frisches, lebhaft in Teilung befindliches Material vorschlagen.

3.3.4. Temperatur. Der Einfluß der Temperatur auf die Bewegungsgeschwindigkeit im einseitigen Licht von 5 Lux und in Dauerdunkel wurde auf einer Temperaturbank im Bereich 12–40° C untersucht. Dabei zeigte sich eine Zunahme der Geschwindigkeit bis 30° C. Oberhalb 30–34° C sank die Geschwindigkeit rasch ab (Abb. 2).

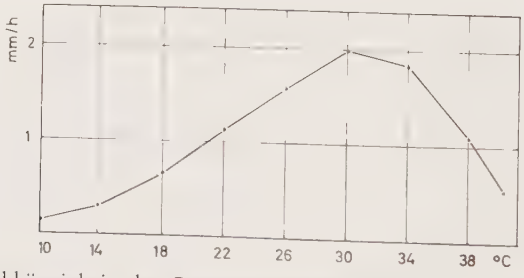

Abb. 2: Temperaturabhängigkeit der Bewegungsgeschwindigkeit bei 5 Lux. Abszisse: Temperatur. Ordinate: Geschwindigkeit.

3.4. Dunkelbewegung. Auf das Vorkommen einer Dunkelbewegung weisen schon Aderhold und Klebs hin. Bei *M. denticulata* erreicht sie, während der Zeit von 12–17 Uhr bei 22° C gemessen, Durchschnittswerte von 0,6–0,9 mm/h. Sie nimmt aber mit der Länge der vorausgegangenen Dunkelzeit bald ab und erlischt nach ca. 10 Tagen.

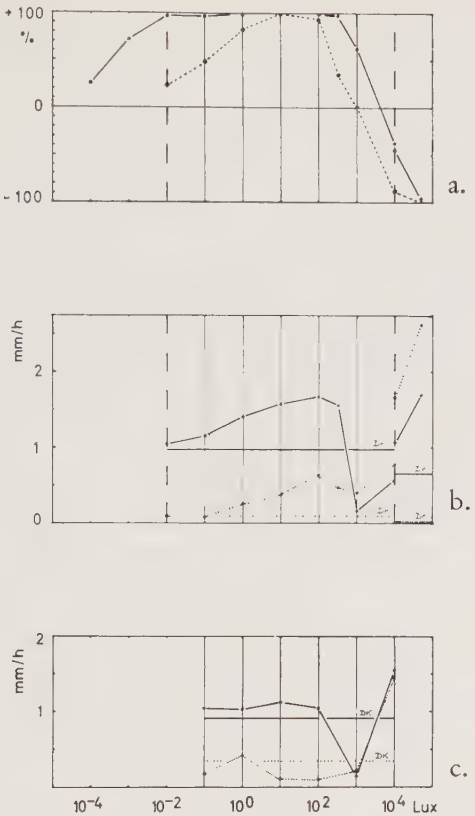

Abb. 3: Orientierung und Bewegungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Weißlicht-Intensität, 12–17 Uhr (———), bzw. 0–9 Uhr (. . . . .). Abszisse: Intensität im logarithmischen Maßstab. Ordinate: a. Orientierungsgrad in %; b. Geschwindigkeit im horizontal eingestrahlten Licht; c. dgl. im senkrecht von oben eingestrahlten Licht. Diagramme aus mehreren sich überlappenden Versuchen zusammengesetzt. DK = Dunkelkontrolle.

Schon nach wenigen Dunkeltagen ist die Schleimproduktion so stark reduziert, daß die Zellen kaum mehr am Glasboden haften. Beim Bewegen der Schale gleiten sie dann mit stark kontrahierten Chloroplasten lose am Boden. Chloroplastenkontraktion und Bewegungslosigkeit verschwanden auch nach dreiwöchiger Dunkelzeit im Licht innerhalb eines Tages.

3.5. Geschwindigkeit im Weißlicht. Im horizontal eingestrahlten Weißlicht zeigte die Geschwindigkeit eine deutliche Abhängigkeit von der Intensität (Abb. 3 b): Die Werte für die Kardinalpunkte gehen aus Abb. 3 b hervor.

Um auch die tageszeitliche Schwankung der Absolutwerte zu zeigen, wurde bei der Darstellung auf eine Umrechnung auf die Dunkelbewegung als Bezug der Photokinesis (Nultsch 1962) verzichtet, zumal die ermittelten Werte im Dunkeln und bei schwacher Orientierung auch mit größeren Meßfehlern behaftet sind.

Die Schwelle der Geschwindigkeitssteigerung gegenüber der Dunkelkontrolle lag nachts ca. 100 × höher, bei 1 Lux. Die übrigen Kardinalpunkte lagen bei Tage und bei Nacht bei denselben Intensitäten. Die absoluten Geschwindigkeiten waren aber nachts im Dunkeln und im Licht wesentlich geringer als tags, mit Ausnahme des zweiten Anstiegs der Reaktion oberhalb 1000 Lux, bei negativer Orientierung (ein Wärmeeinfluß bei den hohen Intensitäten wurde experimentell ausgeschlossen). Das Minimum bei 1000 Lux unterschritt tags weit den Wert der Dunkelkontrolle. Die Maximal- bzw. Durchschnittsgeschwindigkeiten betrugen bei Tage im Optimum 3 bzw. 1,5–2 mm/h.

3.6. Lichteinfallswinkel. Da bei steilem Lichteinfallswinkel die Ausrichtung der Zellängsachse parallel zur Lichtrichtung in der Vertikalebene unvollkommener erfolgte (s. u.), war ein Einfluß des Lichteinfallswinkels auf die Photokinesis sowohl durch Veränderung der dem Licht ausgesetzten Zellfläche als auch durch Veränderung des Anstellwinkels der Zellen zum Substrat zu vermuten.

Daher wurde der in Abb. 3 a, b dargestellte Versuch bei senkrecht von oben her erfolgender Lichteinstrahlung wiederholt (Abb. 3 c). Hierbei trat eine deutliche Geschwindigkeitssteigerung nur bei Intensitäten oberhalb der Indifferenzzone auf. Das Minimum der Photokinesis lag am Tage unverändert deutlich bei 1000 Lux, trotz vorwiegender Flächenlage der Zellen. Hier handelt es sich also um eine Lichtstarre.

Die im Vergleich zu den Ergebnissen bei horizontaler Einstrahlung auffallend große Geschwindigkeitssteigerung bei 10 000 Lux hängt wohl mit der Flächenstellung der Zellen und der damit verbundenen höheren Lichtabsorption zusammen. Der zweite Anstieg der Photokinesiskurve oberhalb 1000 Lux läßt sich demnach auf die von der Zelle absorbierte Gesamtlichtmenge zurückführen. Die relativ langsame Bewegung bei niedrigen Intensitäten mag zumindest am Tage durch Kantenstellung der Zellen bedingt sein.

Ein exakter Vergleich zwischen der Photokinesis bei horizontaler und vertikaler Einstrahlung ist aber nicht möglich. Denn die Bestimmung der Spurlänge bei vertikaler Einstrahlung positiv orientierender Intensitäten ist durch mehr oder weniger starke Zerknäuelung der Spuren (stärker als bei der Dunkelbewegung), die wohl mit Kantenstellung der Zellen zusammenhängt, wenig genau. Die wahren Werte dürften daher etwas höher liegen. Zudem ist auch die Zellage weniger definiert; denn bei vertikaler Einstrahlung von z. B. 100 Lux ist die Kantenstellung der Zellen weniger vollkommen als bei horizontaler Einstrahlung die Flächenlage.

3.7. Monochromatisches Licht. In orientierenden Versuchen wurde der Einfluß von Blaulicht (DAL 434 + BG 7) und Rotlicht (DAL 666 + OG 3) untersucht. Dabei zeigte sich in beiden Fällen die Schwelle der Geschwindigkeitssteigerung bei 0,01–0,1 erg/cm²sec, das Optimum bei 10–100 erg/cm²sec und das Minimum vor dem zweiten Anstieg im Blau bei 1000 erg/cm²sec und im Rot bei 10 000 erg/cm²sec. Bendix gibt vergleichbare Werte im Violett mit 1000, im Rot mit 15 000 erg/cm²sec an. Im quantengleichen Licht (bezogen auf 1 erg cm²sec bei 666 nm) war die Bewegung gut im UV-, Blau- und Rotlicht, schlecht dagegen im Grünlicht.

3.8. Tagesrhythmus. Auf den Einfluß der Tageszeit auf die Geschwindigkeit der Zellen im Licht und im Dunkeln wurde oben schon hingewiesen. Tags erfolgt rasche, nachts langsame Bewegung, sofern die Lichtintensität nicht im Bereich des zweiten Anstiegs der Bewegungskurve liegt (Abb. 3 b). Diese Tagesperiodik, die sich auch unter

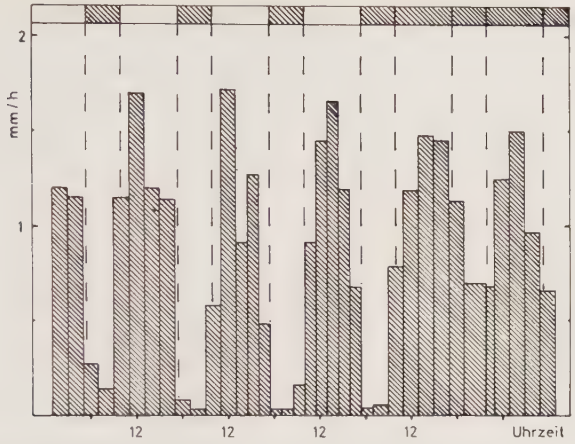

Abb. 4: Tagesperiodik der Bewegungsgeschwindigkeit im einseitigen Licht von 5 Lux. Abszisse: Tageszeit. Ordinate: Geschwindigkeit. Jeder Säule entspricht ein Einzelversuch. Der oben eingezeichnete Licht-Dunkel-Wechsel bezeichnet die Vorbeleuchtung bis zum jeweiligen Versuchsbeginn.

konstanten Bedingungen noch einige Zeit fortsetzt, zeigte sich in mehreren Versuchen verschiedener Methodik:

a) In 3–4stündigen Abständen wurde, jeweils im Neuansatz, die Bewegung ermittelt. Die Zellen wurden dabei immer derselben Kulturschale entnommen. Die Vorbeleuchtung bis zu Versuchsbeginn entsprach dem Beleuchtungsrhythmus während der Kultur. Abb. 4 zeigt die Schwankungen der Geschwindigkeit einer Versuchsreihe bei einseitiger Beleuchtung mit 5 Lux. Demnach wird die maximale Geschwindigkeit kurz

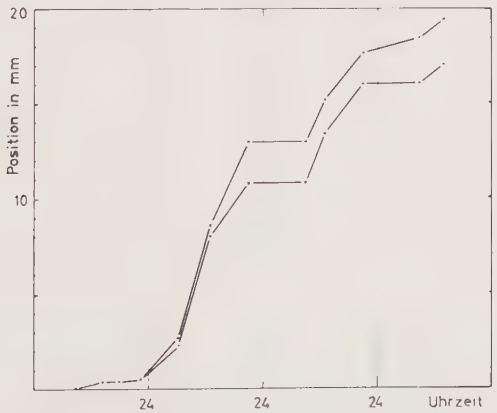

Abb. 5: Tagesperiodik der Bewegung zweier Tochterzellen im einseitigen Dauerlicht von 50 Lux. Abszisse: Tageszeit. Ordinate: Entfernung der Zelle vom Startpunkt in Beziehung zur Lichtrichtung.

vor oder um die Mittagsstunden, minimale dagegen in den frühen Morgenstunden erreicht. Ähnliche Schwankungen zeigten sich bei 50 Lux und im Dunkeln. Auch *M. rotata* zeigte, allerdings weniger deutlich, eine solche Rhythmik.

b) Innerhalb derselben Küvette wurde in zeitlichen Abständen die Verlagerung der Zellen in Beziehung zur Lichtrichtung verfolgt. In Abb. 5 ist die Bewegung zweier Tochterzellen dargestellt, deren Mutterzelle sich zu Beginn der Beobachtungen gerade zur Teilung anschickte.

Auch der von Bendix in Fig. 6 dargestellte Versuch zeigt, nach entsprechender Aufzeichnung, eine Geschwindigkeitsschwankung mit einer Periodenlänge um 24 Std. bei *M. rotata var. evoluta*. Leider wurden keine absoluten Zeitangaben beigefügt. Die enger liegenden Meßpunkte während rascherer Bewegung dürften wohl den Tagwerten entsprechen. Hygen dagegen mußte bei seinen im Turnus von 24 Std. gemachten Beobachtungen eine eventuelle Tagesrhythmik verborgen bleiben.

c) Die Kriechspuren weniger Zellen wurden zeitlich treppenförmig aufgelöst (Abb. 6, A), indem die Lichtrichtung in regelmäßigen, durch eine Schaltuhr gesteuerten Intervallen, rechtwinklig alternierend, umgeschaltet wurde. Die Lichtintensität wurde hierbei mit 5 Lux so gewählt, daß sie in der Sättigung der Orientierungsreaktion, aber noch im ansteigenden Teil der Geschwindigkeitskurve lag (vgl. Abb. 3 a, b).

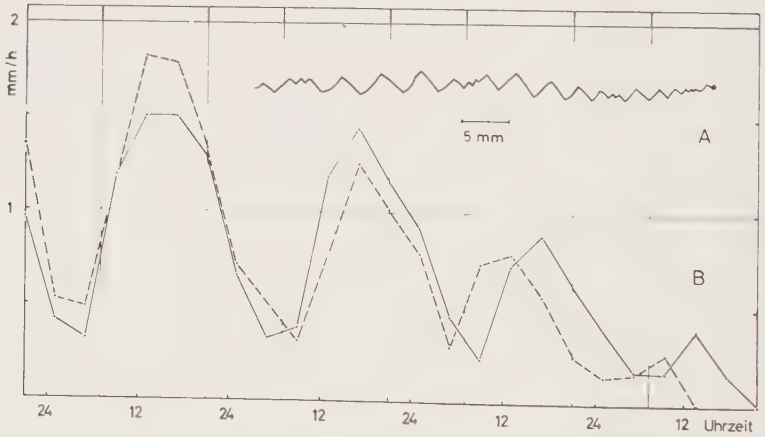

Abb. 6: Tagesperiodik der Bewegungsgeschwindigkeit im alternierenden Licht 2 : 2 h, 5 Lux. A. Bewegungsspur einer Zelle. B. Bewegungsgeschwindigkeit zweier Zellen. Abszisse: Tageszeit. Ordinate: Geschwindigkeit.

Für die graphische Darstellung wurden jeweils die den beiden Lichtrichtungen entsprechenden Kurven überlagert, da sich ihre Absolutwerte trotz möglichster Gleichheit der Einstrahlungen in Farbtemperatur und Intensität meist etwas unterschieden.

Abb. 6, B zeigt die periodische Schwankung der Geschwindigkeit zweier Zellen bei 5 Lux. Mit zunehmender Versuchsdauer erfolgte dabei eine Phasenverschiebung zwischen beiden Zellen. Die Bewegung klang nach 3–4 Tagen aus.

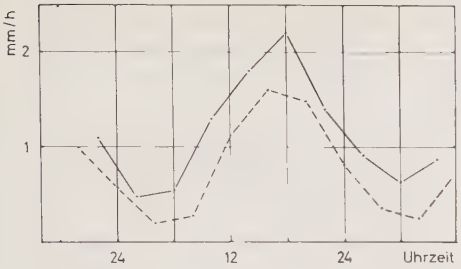

Abb. 7: Tageszeitlicher Verlauf der Bewegungsgeschwindigkeiten einer Zelle, alternierend gegen horizontale Einstrahlung von 50 Lux (———) und 1 Lux (. . . . .). 2 : 2 h.

Dementsprechend war der Einfluß der Tageszeit auf die Geschwindigkeit geringer, wenn die Zellen nicht am Abend vor dem Versuchstag, sondern noch einen Tag früher dunkelgestellt wurden. Trotzdem wurde aus praktischen Gründen die Vorverdunklung des Versuchsmaterials am Abend vor dem Versuchstag gewählt, insbesondere weil mit zunehmender Vorverdunklung die Geschwindigkeit zu stark abnimmt.

Die Rhythmik der Geschwindigkeit ist unabhängig von der Lichtintensität, sofern es sich nicht um überoptimale Intensitäten handelt. Wie aus Abb. 3 b hervorgeht, kann sie auch nicht durch eine periodische Wanderung des Optimums verursacht sein. Bei alternierender Einstrahlung zweier verschiedener, unteroptimaler Intensitäten bleibt die absolute Differenz der Geschwindigkeiten ungefähr konstant (Abb. 7).

4. Orientierung im einseitigen Licht

Als Maß für die orientierende Wirkung des Lichtes eignet sich, besser als die momentane Lage der pendelnden Zellachse, der durch Anfangs- und Endort der angefärbten Kriechspur bestimmte Vektor in seiner Lage zur Lichtrichtung. Er wurde der Auswertung nach der Orientierung in Kap. 4 und 5 zugrunde gelegt. Bei schlechter Orientierung der Spur wurde hierbei das Verhältnis zwischen Vektor- und Spurlänge nicht berücksichtigt; der dadurch mögliche Fehler tritt bei größerer Zellzahl nicht in Erscheinung.

4.1. Auswertung, Versuchsdauer. Die Auswertung der Orientierungsreaktion wurde nach Haupt (1957) vorgenommen. Hierzu wurden alle Zellen, mit Ausnahme der deutlich als junggeteilt erkennbaren, gemäß ihrer Bewegungsrichtung Spuranfang – Spurende den 8 Sektoren eines aufgeteilten Kreises zugeordnet und addiert. Die Vektorsumme in bezug auf die Lichteinfallsrichtung ergab in Prozent der Gesamtzahl der ausgewerteten Zellen den Orientierungsgrad.

Spuren, deren zugehörige Zelle bei der Präparation verlorengegangen war, konnten meist durch den angefärbten Gallertabdruck der Zelle, durch den verbreiterten Anfangshof der Spur oder durch die Form der Überschlagungslücken in ihrer Orientierung erkannt werden (vgl. Neuscheler 1967).

Bei unteroptimaler Orientierung scheint die Versuchsdauer einen Einfluß auf den Orientierungsgrad der Spuren zu haben. Die Zellen kommen beim Versuchsansatz ja statistisch verteilt zu liegen. Die in Abb. 3 a dargestellten Versuche wurden daher tags konstant von 12 bis 17 Uhr durchgeführt, während die Laufzeit der Einzelversuche in der tagesperiodischen Versuchsreihe abends und nachts wegen der geringeren Beweglichkeit relativ länger gewählt wurde.

4.2. Weißlicht. Die Orientierung im Weißlicht zeigen die in Abb. 3 b dargestellten Versuche zur Photokinesis bei Auswertung nach dem Orientierungsgrad in Abb. 3 a. Da die Werte aus der Abbildung hervorgehen, sei hier nur auf die sehr niedrig, zwischen 10^{-5} und 10^{-4} Lux liegende Nullschwelle hingewiesen. Indifferenz wurde in Übereinstimmung mit Hygen bei 4000 Lux gefunden.

4.3. Tagesperiodik. Während der späten Nachtstunden engt sich der Intensitätsbereich, innerhalb dessen positive Orientierung zu beobachten ist, beidseitig ein. Die Nullschwelle liegt dann um den Faktor 100 höher bei ca. 0,01 Lux; der Indifferenzpunkt wird schon bei 1000 Lux erreicht (vgl. Abb. 3 a). Bei gleicher Intensität wird nachts außerhalb des Sättigungsbereiches der Orientierungsreaktion geringere positive bzw. stärkere negative Orientierung erreicht.

Ähnliche Schwankungen traten auch im monochromatischen Licht auf. Abb. 8 zeigt den Tagesgang der Orientierung bei drei für positive Orientierung unteroptimalen Rot-Intensitäten bei einer zu verschiedenen Tageszeiten angesetzten Versuchsreihe. Die Tagesperiodik setzte sich auch bei verschieden lange vorverdunkelten Zellen fort. Eine ähnliche, aber geringere Schwankung wurde bei der Orientierung im schwachen Blaulicht festgestellt. Analog zu den Ergebnissen im Weißlicht trat auch bei überoptimalen Rot- und Blau-Intensitäten nachts eine Abschwächung der positiven bzw. Verstärkung der negativen Orientierung auf.

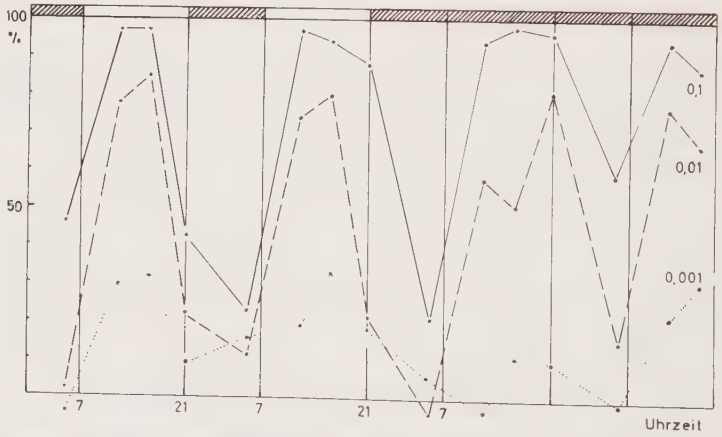

Abb. 8: Tagesperiodik der Orientierung in schwachem Rotlicht (666 nm) bei 0,1–0,01–0,001 erg/cm²sec. Abszisse: Tageszeit. Ordinate: Orientierungsgrad in %. Licht-Dunkel-Wechsel bis Versuchsbeginn über den Kurven angegeben.

4.4. Monochromatisches Licht. Aus den oben angeführten tagesperiodischen Versuchen wurden für den Zeitraum 10 bis 19 Uhr bzw. 0 bis 10 Uhr die Mittelwerte zweier aufeinanderfolgender Tage in Abb. 9 als Intensitäts-Orientierungs-Kurven dargestellt: Demnach lag bei 666 nm die Nullschwelle tags zwischen 0,0001 und 0,001 erg/cm²sec, während sie bei Nacht auch hier 100 × höher lag. Das Optimum der

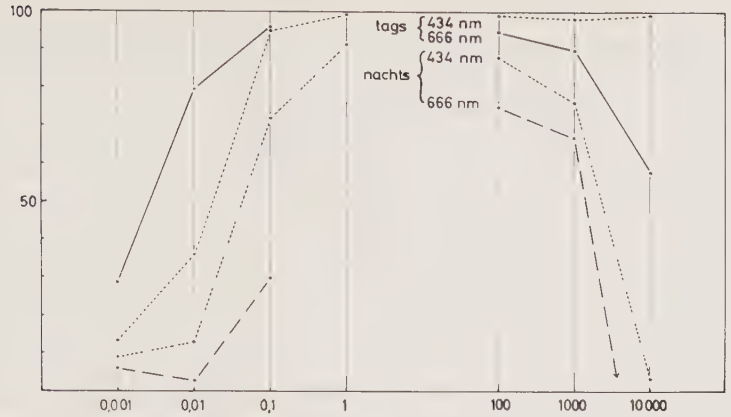

Abb. 9: Orientierung im einseitigen Rot- bzw. Blaulicht. Abszisse: Intensität in erg/cm²sec, logarithmisch. Ordinate: Orientierungsgrad der Bewegungsspuren in %.

Reaktion wurde in weiteren Versuchen tags bei 1–10 erg/cm²sec gefunden. Im Blaulicht lag die Nullschwelle etwas höher. Die positive Orientierung zeigte hier geringere tageszeitliche Schwankungen als im Rotlicht.

Eine genauere spektrale Differenzierung war nicht möglich, da aus technischen Gründen nicht gleichzeitig mit mehreren Projektoren gearbeitet werden konnte.

Auch Bendix fand im Blau eine höhere Nullschwelle als im Rot. Die für Indifferenz nötige Intensität liegt nach ihr im Rot allerdings höher als im Blau.

4.5. Orientierungsmuster. Bei geringen Orientierungsgraden, vorwiegend im Bereich von 70–90 %, zeigten die Spuren bisweilen eine rautenförmige Anordnung. Die Einzelspuren verliefen hierbei insgesamt oder teilweise schräg zur Lichtrichtung, von der sie beidseitig bis zu 45° abwichen, oft sogar unter Bevorzugung solcher Richtungen. Die Ursache dieser nur bei unter- bzw. überoptimalen Lichtintensitäten beobachteten Anordnung ist noch unbekannt. Das gelegentliche Vorkommen von Überkreuzungen spricht gegen eine Verursachung durch Reflexe.

4.6. Lichteinfallswinkel. Die oben angeführten Ergebnisse beziehen sich auf horizontale Einstrahlung. Bei steilerer Einstrahlung verändert sich die Geschwindigkeit und die Orientierung der Spuren in Beziehung zu der auf die Substratebene projizierten Lichtrichtung. Dies kann einerseits durch Verringerung des Absorptionsgradienten bei substratparallelen Zellen, andererseits durch Veränderung der Zellage zum Substrat bedingt sein.

Tags waren bei 200 Lux Geschwindigkeit und Orientierung bei steilerem Lichteinfall geringer. Bei Einstrahlung unter 40° zeigte sich bei 800 Lux schwach negative Orientierung, während die horizontal belichtete Kontrolle noch deutlich positiv zum Licht orientiert war. Bei einem Lichteinfall unter 45° wurde nachts der Indifferenzpunkt schon bei 100 Lux erreicht. Die bei 800 Lux beobachtete negative Orientierung hängt wohl mit der Senkrechtstellung der Zellen zum Licht bei dieser Intensität zusammen. Dadurch kommen die Zellen bei schräg von vorne einfallendem Licht mit ihrem freien Vorderende schräg nach hinten oben zu stehen, wodurch die Bewegung gerichtet wird.

Auch im Kulturkasten wurden bei den am Rande stehenden Schalen häufig negativ phototaktische Ansammlungen beobachtet.

5. Orientierung im zweiseitigen Licht

Da die Versuche zur Orientierung im einseitigen Licht nur sehr grobe spektrale Wirkungsunterschiede lieferten, wurde versucht, ein Wirkungsspektrum auf Grund der Orientierung der Zellen in zweiseitiger, rechtwinklig einfallender Strahlung aufzustellen. Hierbei diente ein in Farbe und Intensität konstantes Lichtbündel als Bezug für die relative Wirksamkeit des zweiten Bündels, dessen Intensität in aufeinanderfolgenden Versuchen variiert wurde.

Die sich bei den verschiedenen Intensitäten jeweils ergebenden Orientierungswinkel α (gegen die Einfallsrichtung der Bezugsstrahlung gemessen) wurden als tg-Intensitätskurven bzw. -geraden aufgetragen. Die gegen den Bezug wirkungsgleiche Intensität bei $\alpha = 45^\circ$ wurde aus diesen Geraden inter- bzw. extrapoliert, um vom Resultantengesetz unabhängig zu sein.

Zur einfachereren und exakteren Bestimmung der von den Zellen eingeschlagenen Bewegungsrichtung wurden mit wenigen Ausnahmen die Intensitäten so hoch gewählt, daß mindestens angenähert die Sättigung der Orientierungsreaktion erreicht wurde. Bei den Versuchen im monochromatischen Licht diente meist Rot als Bezug.

5.1. Auswertung. Zur Bestimmung des Orientierungswinkels α wurde die auszuwertende Küvette auf einer von unten her diffus beleuchteten Glasplatte mit parallelen Linien so orientiert, daß die Hauptorientierungsrichtung der Spuren parallel zu den Linien zu liegen kam. Als Meßwert wurde der Durchschnitt aus je 5 Ablesungen benutzt. Bei Versuchen gegen einen Bezug von nur 0,01 erg cm²sec (666 nm), bei denen diese Methode wegen mangelnder Orientierung nicht mehr genügte, wurde α als Durchschnitt aus den einzeln ausgemessenen Spurrichtungen ermittelt.

5.2. Resultantengesetz und tg-Intensitätskurven. Bei obiger Methode wurde bei je gleichfarbiger Einstrahlung von weißem oder farbigem Licht in einem relativen Intensitätsbereich von $\frac{1}{4} : 1 : 4$ kein Widerspruch zum Resultantengesetz festgestellt. Die Orientierung erfolgte hier also gemäß der physikalischen Vektorsumme.

Bei Einstrahlung von Blau gegen Rot zeigten sich jedoch erhebliche Abweichungen: Im Bereich um $\alpha = 45^\circ$ bewirkte eine Verdopplung der Blauintensität nur eine Erhöhung von tg α um den Faktor 1,15 bis 1,35.

Bei Blauintensitäten, die relativ zur wirkungsgleichen Intensität sehr hoch oder sehr niedrig waren, zeigten die tg-Intensitätskurven wieder eine größere Steigung, wodurch die Kurven insgesamt einen S-förmigen Verlauf erhielten. Dies wurde gegen Rot 0,1 bzw. 1 erg/cm²sec nachgewiesen (vgl. Abb. 10).

5.3. Rot-Blau-Beziehung. Die aus den obigen und anderen Versuchen ermittelten Werte für die gegen verschiedene Rotintensitäten wirkungsgleichen Blauintensitäten sind in Abb. 11 dargestellt. Demnach ist die relative Wirksamkeit des Blaulichtes nur bei geringen Rotintensitäten (unterhalb 0,1 erg/cm²sec) praktisch von diesen unabhängig. Zwischen 1 und 100 erg cm²sec besteht Sättigung der Rotwirkung, die gegen 1000 erg/cm²sec deutlich abfällt.

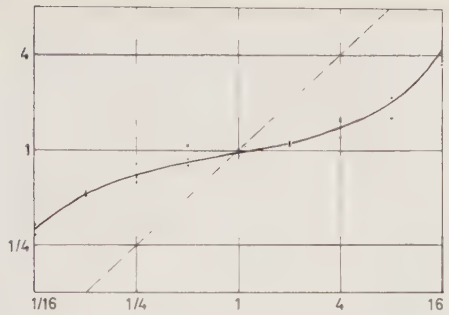

Abb. 10

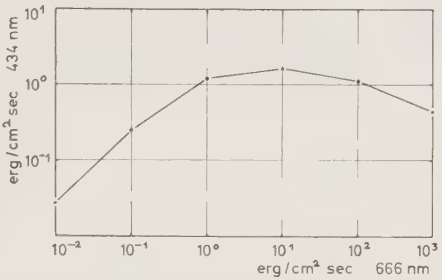

Abb. 11

Abb. 10: tg-Intensitätskurve bei zweiseitiger Rot/Blau-Einstrahlung. Abszisse: Relative Blauintensität (1 = 1,1 erg/cm²sec). Ordinate: tg α (Orientierungswinkel, logarithmisch).

Abb. 11: Wirkungsgleiche Rot- und Blauintensitäten für die Orientierung (α = 45°). Tagversuche.

5.4. Tagesperiodik. Bei zu verschiedenen Tageszeiten aufeinanderfolgenden Versuchen zeigte sich der Orientierungswinkel bei jeweils gleicher Rot/Blau-Einstrahlung tagesperiodisch schwankend, während bei beidseitiger, verschieden starker Weißlichteinstrahlung ein solcher Einfluß nicht festgestellt werden konnte. Gegen Rotintensitäten von 0,1–100 erg/cm²sec erhöhte sich während der Nacht- bzw. frühen Morgenstunden in wechselndem Ausmaß die relative Wirksamkeit des Blaulichtes, während gleichzeitig untersuchtes Material, das bei inversem Beleuchtungsrhythmus kultiviert worden war, den umgekehrten Verlauf zeigte. Wurde an Stelle zeitlich aufeinanderfolgender, kurzfristiger Einzelversuche dieselbe Küvette 2 Tage lang bestrahlt, so zeigten die Spuren S-förmige Krümmungen, die aber weniger stark ausgeprägt waren als nach den obigen Versuchen zu erwarten war.

Möglicherweise haben dort jeweils nach Versuchsbeginn einsetzende Adaptationsvorgänge einen tageszeitlich wechselnden Einfluß. Darauf deuten auch oft recht deutliche Krümmungen zu Beginn der Spuren, die nicht durch das Entleeren der Küvetten entstanden sein können. Diese Krümmungen, die bei gleichfarbiger Einstrahlung ausblieben, wiesen bei niedrigen Rotintensitäten morgens und mittags von Blau zu Rot, während sie weniger deutlich nachts und bei höheren Rotintensitäten in umgekehrter Richtung verliefen. Die Krümmungen traten bei gleichzeitig bestrahlten Küvetten oft in unterschiedlichem Ausmaß auf. Bei gleichzeitig untersuchtem Material aus inversem Beleuchtungsrhythmus verliefen sie entgegengesetzt. Sie können daher nicht durch Schwankungen der Stromspannung über Farbtemperaturänderungen erklärt werden. Bei dreistündiger Vorverdunklung der in die Küvette eingebrachten Zellen blieben die Krümmungen im Vergleich zur unverdunkelten Kontrolle aus. Dies deutet wiederum auf Schockwirkungen, die durch den Versuchsansatz ausgelöst werden.

5.5. Wechselwirkungen zwischen Rot und Blau. Die nächtliche Erhöhung der relativen Blauwirksamkeit war sehr unterschiedlich. In einigen Versuchen gegen 0.1, 100 bzw. 1000 erg/cm²sec (Rot) wurden sogar rotnegative Spuren bzw. Anfangskrümmungen beobachtet. Demnach könnte hier an der Vergrößerung des Orientierungswinkels auch eine kurzfristige, durch Blaulicht sensibilisierte, rotnegative Wirkung beteiligt sein.

Der Vergleich der Wirksamkeiten bei einseitiger (Abb. 9) und zweiseitiger (Abb. 11) Einstrahlung zeigt aber, soweit das bei diesen nicht gleichzeitig durchgeführten Versuchen überhaupt möglich ist, zumindest im unteroptimalen Intensitätsbereich, für die Tagwerte ungefähre Übereinstimmung. In Vorversuchen zum Wirkungsspektrum hatte sich zudem die relative Wirksamkeit des Blaulichtes unabhängig von der Wellenlänge der Bezugsstrahlung gezeigt. Auch die von der Intensität der roten Bezugsstrahlung ziemlich unabhängige Steigung der tg-Intensitätskurven steht, wenigstens tags, einer Sensibilisierung der Blauwirksamkeit durch Rot entgegen.

Andererseits zeigt aber ein Vergleich der Orientierungskurven für einseitig einfallendes Blau- bzw. Rotlicht und Weißlicht (unter Zugrundelegung eines im betr. Weißlicht bestimmten Umrechnungsfaktors von 1 Lux $\approx$ 5 erg/cm²sec), daß die Reaktion im Weißlicht deutlich empfindlicher ist: trotz Beimischung des wenig wirksamen, die Messung mittels Photoelement aber stark beeinflussenden Grünlichtes, liegen Nullschwelle und Indifferenzpunkt im Weißlicht bei niedrigeren Intensitäten. – Für nähere Aussagen über Art und Umfang eventueller Wechselwirkungen sind weitere Versuche nötig.

Bendix projizierte ein Spektrum in die Küvette und beobachtete im langwelligen Bereich bis 570 nm eine senkrecht zum Lichteinfall gegen den kurzwelligen Bereich weisende Orientierungskomponente. Für diese Orientierungsweise, die bei *M. denticulata* auch bei gleichzeitiger, paralleler Einstrahlung von Rot (10 erg/cm²sec) und Blau (15 erg/cm²sec) nebeneinander in dieselbe Küvette nicht beobachtet wurde, könnte nach Haupt (1961) eine Sensibilisierung der Orientierungsreaktion auf blaues Streulicht durch Rotlicht verantwortlich sein.

Daß eine Orientierung auf Streulicht, das von den Nachbarzellen ausgeht, möglich ist, zeigen sich positiv zum Streulicht orientierende Zellen außerhalb eines starken, negative Orientierung hervorrufenden Lichtbündels.

5.6. *Wirkungsspektrum.* Den in Abb. 12 dargestellten Wirkungsspektren liegen pro Kurvenpunkt durchschnittlich 3–4 Versuche mit je 3 gleichzeitig bestrahlten Küvetten

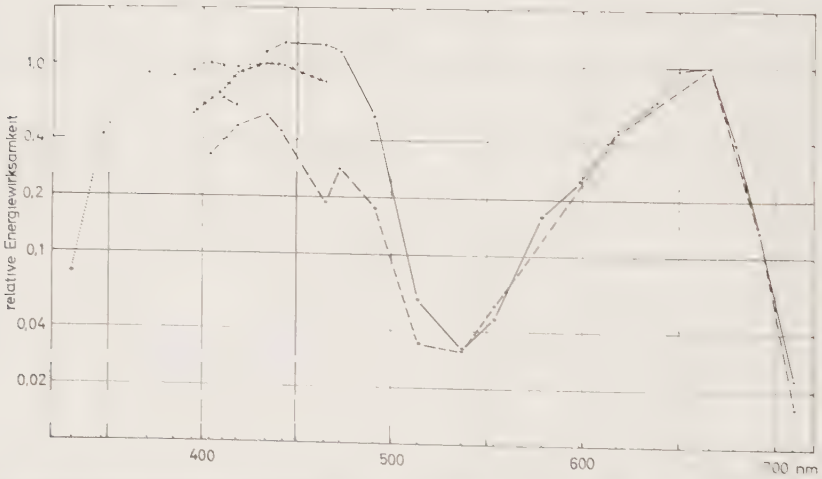

Abb. 12: Wirkungsspektrum der Orientierung im zweiseitigen Licht. Abszisse: Wellenlänge. Relative Energiewirksamkeit (Ordinate) gegen die Bezugsstrahlung: a. 666 nm, 3 erg/cm²sec (——); b. 666 nm, 0,1 erg/cm²sec (– – – –); c. 434 nm, 1,25 erg cm²sec (— — — —); d. 434 nm, 1 25 erg cm²sec (. . . . .). a–c: Projektor mit Glühlampe; d: Xenonlampe, Photoelement mit UG 5.

zugrunde. Die tg-Intensitätsgeraden, die sich aus diesen Einzelwerten ergaben, zeigten, wenn beide Einstrahlungen innerhalb desselben Farbbereichs Rot bzw. Blau-Violett-UV lagen, eine der Resultantenbeziehung entsprechende Steigung, andernfalls entsprach die Steigung der in den Blau-Rot-Versuchen ermittelten Steigung (vgl. Abb. 10). Bei der Interpolation wurde entsprechend verfahren.

Als Bezug diente die Wellenlänge 666 nm mit zunächst 3, dann 0,1 erg/cm²sec, um weiter aus dem Bereich der Rotsättigung zu gelangen. Bei einem Bezug von 0,1 erg/cm²sec war allerdings, bei geringerer Orientierung und Bewegungsgeschwindigkeit, die Auswertung erschwert und weniger genau. Im UV-Bereich diente die Wellenlänge 434 nm mit einer Intensität von 1,25 erg/cm²sec als Bezug, entsprechend einer Rotintensität von 1 erg/cm²sec.

Im langwelligen Bereich zeigen die Kurven (Abb. 12) auffallende Übereinstimmung, mit einem Maximum im Bereich 650–666 nm, während im kurzwelligen die Gipfelhöhe gemäß Abb. 11 von der Intensität der roten Bezugsstrahlung bzw. der Rotsättigung abhängt. Im kurzwelligen Bereich erscheint der unterschiedliche Verlauf der einzelnen Kurven relativ zum Gipfel in Anbetracht der problematischen Energiemessung und des nicht ganz auszuschließenden Einflusses der Tagesperiodik nicht gesichert.

Die Ursachen für den Kurvenabfall im Violett von 434 nm gegen 400 nm bei einem Bezug von 666 nm mit 0,1 und 3 erg/cm²sec dürften besonders in der hier steil abfallenden spektralen Empfindlichkeit des benutzten Photoelements liegen, wodurch der Einfluß von Falschlicht bei der Intensitätseinstellung im Vergleich zu den Bedingungen während des Eichens erhöht wird. Der UV-Versuch zeigt diesen Abfall nicht; bei ihm war dem Photoelement ein UG 5 (Schott) vorgeschaltet.

Aus dem Verlauf der vorliegenden Kurven kann lediglich auf eine sich über den gesamten kurzwelligen Bereich vom Blau bis zum langwelligen UV bei 370 nm erstreckende Empfindlichkeit geschlossen werden. Der Quantenbedarf im Violett liegt bei niedriger Intensität nur wenig über dem im Rot.

Orientierende Versuche mit *M. rotata* gegen einen Bezug 666 nm, 0,1 erg/cm²sec zeigten einen grundsätzlich ähnlichen Verlauf, wenngleich die relative Blauwirksamkeit hier etwas niedriger war.

Auch die von Bendix ermittelten, lückenhaften Wirkungsspektren für die Nullschwelle, den Indifferenzpunkt und für das Verhältnis zwischen einer unteroptimalen Intensität und der bei ihr erreichten Bewegungsgeschwindigkeit («EUF»), lassen bei steigender Intensität eine Zunahme der Blauwirkung erkennen. Solange allerdings noch nicht feststeht, ob der Orientierung und der Photokinesis dieselben Primärprozesse zugrunde liegen, können die Ergebnisse von Bendix nicht auf die Orientierungsreaktion übertragen werden. Zudem scheinen den Versuchen von Bendix auch methodische Mängel anzuhaften. Abgesehen davon, daß Angaben über die Vorbehandlung des Materials, Zeit und Dauer der Versuche und die Auswertungsmethode fehlen, wurden z. B. dem EUF-Wirkungsspektrum an mehreren Punkten die von Bendix selbst in Tab. 12 angegebenen Sättigungsgeschwindigkeiten zugrunde gelegt.

6. Diskussion

6.1. Photokinesis und Phototaxis. Die Untersuchung der Photokinesis ohne störende Beeinflussung durch die Phototopotaxis kann durch die Wahl geeigneter Versuchsanordnungen erfolgen:

a) durch Beleuchtung mit *diffusem* Licht;

b) durch *senkrecht* zur Bewegungsebene erfolgende Einstrahlung, wenn Bewegung und

Orientierung nur in der Substratebene möglich sind (z. B. *Phormidium*; vgl. Nultsch 1962);

c) auch durch substrat*parallele* Einstrahlung, sofern die Organismen sich nicht aktiv in Beziehung zur Lichtrichtung ausrichten können (z. B. *Phormidium*).

Die Lichtintensität hat dann keinen Einfluß auf die Größe der dem Licht ausgesetzten Zellfläche. Bei Organismen, die sich dreidimensional bewegen und orientieren und die von der Kugelform abweichen, kann aber die Gesamtabsorption durch die Stellung zur Lichtrichtung beeinflußt werden. Dies trifft in besonderem Maße auf die flachen *Micrasterias*zellen zu.

Zudem ist bei der Gleitbewegung ein mechanischer Einfluß der Zellage zum Substrat anzunehmen. Es gelang aber nicht, diesen Einfluß nachzuweisen, da die Länge der Bewegungsspuren wegen ihrer wohl teils aktiv, teils passiv entstandenen Schwingungen und Krümmungen nicht exakt ermittelt werden konnte. Die Verflachung der Photokinesiskurve bei vertikaler Einstrahlung im Bereich positiv optimal orientierender Intensitäten könnte hiermit wenigstens teilweise gedeutet werden.

Hier ist aber außer der Meßungenauigkeit wohl noch von Einfluß, daß sich die Zellen bei vertikaler Beleuchtung nicht alle aufrichten (betr. Lage der Zellen zum Substrat vgl. Neuscheler 1967). Die verbleibenden Flächenzellen absorbieren mehr Licht und reagieren photokinetisch überoptimal. Die Zahl dieser Zellen wird sich während der Nacht vergrößern, wodurch sich das Minimum bzw. der Bereich negativer Photokinesis gegen niedrigere Intensitäten verschiebt.

Daß tags auch niedrigere Intensitäten an sich die Bewegung schon mindern können, zeigte die gleichzeitige, horizontale Einstrahlung von je 50 Lux unter 180°. Hierbei stellten sich die Zellen vorwiegend auf Kante, senkrecht zur Lichtrichtung. Die angefärbten Bewegungsspuren zeigten gegenüber der einseitig belichteten Kontrolle geringere Bewegung, bei fehlender Orientierung, was mit dem Verhalten am Indifferenzpunkt der Phototaxis zu vergleichen ist.

Das Minimum der Photokinesis und der Wiederanstieg bei höheren Intensitäten weisen keinen Zusammenhang mit der Orientierung in der Substratebene auf, wie Abb. 3 c zeigt.

Im Bereich positiver Phototaxis bestehen dagegen Zusammenhänge zwischen Phototaxis und Photokinesis. Beide zeigen einen parallelen Verlauf der Intensitäts- und Tageszeitabhängigkeit; allerdings liegen die Nullschwellen um den Faktor 100 verschieden. Da sich die Spuren aber, wie schon erwähnt, in ihren Anfangsabschnitten schlechter orientiert zeigen, kann hier eine Beeinflussung der Orientierungsfähigkeit durch die Beweglichkeit sicher angenommen werden.

Innerhalb einer Küvette waren bei unteroptimaler Orientierung die längeren Spuren meist besser orientiert. Bei steilerem Lichteinfall verringern sich Orientierung und Bewegung gemeinsam. Sie sind beide im Vergleich zu Grünlicht groß bei den Wellenlängen 666, 434 und 371 nm.

Hier könnte eine weitere Differenzierung versucht werden durch den Vergleich der Wirkungen zweiseitiger, gleichzeitiger und alternierender monochromatischer Einstrahlung von

Intensitäten, die bei gesättigter Orientierungsreaktion noch keine Sättigung der Geschwindigkeit bewirken.

Andererseits behalten Kantenzellen ohne Ortsbewegung ihre Orientierungsfähigkeit. Umgekehrt verringerte in orientierenden Versuchen o-Phenanthrolin (10^{-4} Mol/l) den Orientierungsgrad, ohne gleichzeitig im Blau und UV die Bewegungsgeschwindigkeit zu beeinträchtigen. Die Verringerung des Orientierungsgrades trat bei einseitiger Beleuchtung in gleicher Weise im UV, Blau und Rot auf; bei zweiseitiger, verschiedenfarbiger Einstrahlung wurde der Orientierungswinkel indessen nicht verändert. Unter der Voraussetzung, daß am Zustandekommen der Orientierung mindestens zwei verschiedene Primärprozesse beteiligt sind, kann aus dieser gleichartigen Hemmwirkung eine Beeinträchtigung der zur Orientierung führenden Sekundärprozesse vermutet werden. Ähnliche Wirkungen beobachteten Stahl u. Mayer (1963) bei *Chlamydomonas* unter der Einwirkung von Essigsäure.

6.2. Wirkungsspektrum. Auf verschiedenartige Primärwirkungen im Rot- und Blaulicht weist bei gleichzeitiger Rot/Blau-Einstrahlung im rechten Winkel das tageszeitlich schwankende Wirkungsverhältnis, das auch bei niedrigen Intensitäten auftritt und daher nicht auf Änderungen des Anstellwinkels (vgl. Neuscheler 1967) zurückgeführt werden kann.

Ferner weist hierauf die vom Resultantengesetz abweichende Orientierung bei Rot/Blau-Einstrahlung. Diese Abweichungen können zumindest im Bereich um $\alpha = 45^\circ$ nicht durch die Annahme einer bestimmten Photorezeptoranordnung erklärt werden, wie sie z. B. von Mast u. Johnson (1932) beschrieben wurde; denn bei gleichfarbiger Einstrahlung fehlen solche Abweichungen.

Auch die Wirkungsgleichheit einer überoptimalen Rot- (1000 erg/cm²sec) und einer unteroptimalen Blauintensität weist auf eine getrennte Perzeption durch die Zelle. Hierauf deutet auch die verschiedene Abhängigkeit von der Intensität bei beiden Prozessen. Während im Blau/Rot-Versuch für Rot bei 1 bis 10 erg/cm²sec Sättigung ermittelt wurde, konnte wegen der ungleich starken Wirkung die Blausättigung nicht ermittelt werden. Ihrer Bestimmung müßte ein Orientierungswinkel von $\alpha = 45^\circ$ zugrunde gelegt werden. Die tg-Intensitätskurven, die im Bereich der Rotsättigung immer ungefähr denselben Ausschnitt aus der Kurve der Blauwirksamkeit darstellen, weisen auf eine höhere Blausättigung. Da bei gleichfarbiger Einstrahlung auch im Sättigungsbereich das Resultantengesetz gültig war, war es nicht möglich, hierbei die Sättigungsintensitäten zu bestimmen.

Wenngleich an der Verschiedenartigkeit der Blau- und Rotwirkung kaum zu zweifeln ist, so liefert doch das Wirkungsspektrum der Phototaxis noch keine sicheren Hinweise auf die zugrunde liegenden Pigmente.

Eine Beteiligung des Phytochromsystems im Rot ist unwahrscheinlich, nachdem sich in mehreren Blau/Rot-Versuchen bei jeweils unteroptimaler Intensität der Orientierungswinkel α trotz gleichzeitig eingestrahlten Dunkelrots (726 nm) nicht deutlich von dem der Kontrolle unterschieden hatte.

Eine eventuelle Rotwirkung über Chlorophyll konnte dagegen nicht ausgeschlossen werden. Blau Rot-Versuche mit o-Phenanthrolin zur Lichtreaktion II der Photosynthese, deren Wirkungsspektrum (Vidaver 1966, Rumberg et al. 1965) zumindest mit dem Maximum bei 650–670 nm eine gewisse Übereinstimmung mit dem der Phototaxis aufweist, zeigten bei geringerem Orientierungsgrad keine deutliche Änderung des Orientierungswinkels gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

Im kurzwelligen Bereich kann auf Grund der vorliegenden Ergebnisse noch keine Entscheidung unter den in Frage kommenden Pigmentgruppen: Flavinen, Carotinoiden und Chlorophyll getroffen werden, wenngleich die bis 370 nm anhaltende Wirksamkeit eine Beteiligung von Flavinen möglich erscheinen läßt. Eventuell sind hier auch mehrere Pigmente beteiligt, worauf die über einen weiten Spektralbereich anhaltende Wirksamkeit und die auch bei Blau UV-Versuchen bisweilen beobachteten Anfangskrümmungen (tags vom Blau zum UV weisend) hindeuten könnten.

c) Tagesrhythmus. Eine tageszeitliche Schwankung zeigte sich bei der Dunkelbewegung, der Photokinesis und der phototaktischen Orientierung im einseitigen und zweiseitigen Licht.

An der rhythmischen Schwankung der Phototaxis im einseitigen Licht mag bei geringen Intensitäten die Schwankung der Beweglichkeit beteiligt sein, nicht aber bei höheren Intensitäten, wo sich beide voneinander unabhängig zeigen: Während der Nacht liegen die für die Phototaxis und Photokinesis jeweils optimalen Intensitäten deutlich verschieden; bei 1000 Lux zeigt sich kein Zusammenhang mehr.

Die tageszeitliche Schwankung der relativen Wirksamkeit von Blau und Rot bei zweiseitiger Einstrahlung läßt eine Schwankung der der Phototaxis zugrunde liegenden Primärprozesse vermuten. Ob hier allerdings eine rhythmische Schwankung der Konzentration der beteiligten Pigmente zugrunde liegt, wie sie Mitrakos et al. (1957) für den Chlorophyll- und Carotinoidgehalt beschreiben, ist unwahrscheinlich.

Die gegensinnige Verschiebung von Nullschwelle und Indifferenzpunkt der Phototaxis im Weißlicht kann nach Mainx (1929) und Luntz (1932) als Stimmungsverschiebung aufgefaßt werden. Nach diesen Autoren kommt die Orientierung durch Überlagerung zweier gleichzeitig ablaufender, von inneren und äußeren Faktoren verschieden beeinflußter, entgegengesetzter Orientierungsreaktionen zustande. Diese an Volvocalen entwickelte Vorstellung könnte auch auf die Phototaxis von *M. denticulata* zutreffen. Die von Mainx geforderte gleichsinnige Verschiebung von Indifferenzpunkt und Optimum ist den Versuchsergebnissen (Abb. 3) allerdings nicht zu entnehmen, da am Tage die Orientierungsreaktion über einen weiten Bereich Sättigung zeigte. Die scheinbare Inversion des Rhythmus bei sehr hohen Intensitäten hängt demnach mit der phototaktischen Stimmung zusammen und kann tags als Erhöhung, nachts als Herabsetzung der Stimmung bezeichnet werden (Abb. 3 a). Die nächtliche Stimmungsherabsetzung zeigt sich auch im farbigen Licht, und zwar bei Rot- stärker als bei Blaulicht.

Diese Vorstellung läßt sich nicht auf die Photokinesis übertragen; denn diese zeigt nur bei hohen Intensitäten bei senkrecht zur Zellfläche erfolgender Bestrahlung unab-

hängig von der Tageszeit, während sie in schwachem Licht bei jeweils parallel zur Zellfläche einfallendem Licht stark tagesperiodisch schwankt.

Die Schwankungen der Geschwindigkeit im Dunkeln und im Photokinesisoptimum, das auch nachts bei derselben Intensität liegt wie tags, weisen hier auf eine tageszeitliche Schwankung der Dunkelreaktionen, die der Bewegung im schwachen Licht zugrunde liegen. Hierbei spielen vielleicht energieliefernde Prozesse eine Rolle, zumal im stärkeren Licht andere Energiequellen eingesetzt werden können (vgl. Fetzer 1963, Nultsch u. Jeeji-Bai 1966).

Es besteht nun die Frage, inwieweit die beobachtete Tagesrhythmik endogen ist. Eine endogene Tagesrhythmik wurde bei grünen Einzellern ja schon mehrfach beschrieben (vgl. Sweeney u. Hastings 1962). Pohl (1948) und Bruce u. Pittendrigh (1956) fanden bei *Euglena gracilis* eine endogene Tagesrhythmik der Phototaxis. Bei der von diesen Autoren benutzten Versuchsanordnung zur automatischen Registrierung können an der gemessenen Zellansammlung im Strahlengang allerdings Phobo- und Topotaxis und Photokinesis gemeinsam beteiligt sein.

In der Literatur finden sich bisher noch keine Hinweise auf das Vorkommen einer endogenen Tagesrhythmik bei Desmidiaceen. Kallio (1953) führt rhythmische Änderungen der physikalischen Eigenschaften des Protoplasten auf den Licht-Dunkel-Rhythmus zurück. Er lehnt eine endogene Tagesrhythmik ab auf Grund der im Dauerlicht tageszeitlich gleichmäßig verteilten Zellteilungen. Allerdings klingt auch eine endogene Rhythmik unter konstanten Bedingungen nach einiger Zeit aus oder sie tritt durch allmähliche Desynchronisation nicht mehr in Erscheinung (Bünning 1963).

Bei *M. denticulata* deutet die Fortdauer der Schwankungen unter konstanten Bedingungen und die umgekehrte Reaktionsweise von invers kultiviertem Material auf eine endogene Tagesrhythmik, die die Beweglichkeit und die Orientierungsfähigkeit beeinflußt. Ob auch die Schwankungen des Wirkungsverhältnisses von Blau- und Rotlicht hiermit in Zusammenhang stehen, muß offenbleiben.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. Haupt, danke ich für sein Interesse und die Anregungen im Laufe dieser Arbeit.

Literatur

Aderhold, R.: Z. Naturwiss. *22* (N. F. *15*), 310–342 (1888).
Bendix, S. W.: Phototaxis in the desmid *Micrasterias rotata* var. *evoluta*. Thesis Univ. of California (1957).
Bruce, V. G., and C. S. Pittendrigh: Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. *42*, 676–682 (1956).
Buder, J.: Pringsh. Jb. wiss. Bot. *58*, 105–220 (1917).
Bünning, E.: Die physiologische Uhr. 2. Aufl. Berlin 1963.
Fetzer, J.: Z. f. Bot. *51*, 468–506 (1963).
Gerhardt, K.: Diss. Jena 1913.
Hastings, J. W., and B. M. Sweeney: Biol. Bull. *115*, 440–458 (1958).
Haupt, W.: Planta *49*, 61–90 (1957).
– Bewegungen. In Fortschr. d. Bot. *23*, 358–380 (1961).
Hauptfleisch, P.: Mitt. Natw. Ver. Neuvorpomm. u. Rügen. 20. Jg. 1888, 59–136 Berlin 1889.
Hygen, G.: Bergens Museums Årbok 1938, Naturv. Rekke *9*, 1–35, Bergen 1940.
Kallio, P.: Arch. Soc. Bot. Vanamo *8*, 58–74 (1953).

Kinzel, H.: Österr. Bot. Z. *100*, 25–79 (1953).
Klebs, G.: Biol. Zentralbl. *5*, 353–367 (1885).
Kol, E.: Folia Cryptogamica Szeged *1*, 436–442 (1927).
Krieger, W.: Die Desmidiaceen Europas mit Berücksichtigung der außereuropäischen Arten. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora Bd. 13, Abt. 1, Teil 1. Leipzig 1937.
Luntz, A.: Z. vergl. Physiol. *14*, 68–92 (1931).
– Z. vergl. Physiol. *16*, 204–217 (1932).
Mainx, F.: Arch. Protistenkde. *68*, 105–176 (1929).
Mainx, F., und H. Wolf: Arch. Protistenkde. *93*, 105–120 (1940).
Mast, S. O., and P. L. Johnson: Z. vergl. Physiol. *16*, 252–274 (1932).
Mitrakos, K., E. Bünning und F. Eberhardt: Z. Naturforschg. *12 b*, 813–814 (1957).
Neuscheler, W.: Z. Pflanzenphysiol. *57*, 46–59 (1967).
Nultsch, W.: Planta *57*, 613–623 (1962).
Nultsch, W., und Jeeji-Bai: Z. Pflanzenphysiol. *54*, 84–98 (1966).
Pohl, R.: Z. Naturforschg. *3 b*, 367–374 (1948).
Rumberg, B., et al.: Z. Naturforschg. *20 b*, 1102–1116 (1965).
Schröder, B.: Untersuchungen über Gallertbildungen bei Algen. Heidelberg 1901.
Stahl, E.: Bot. Ztg. *38*, 297–413 (1880).
Stahl, N., and A. M. Mayer: Science *141*, 1282–1284 (1963).
Sweeney, B. M., and J. W. Hastings: Rhythms. In: Physiology and biochemistry of algae. p. 687–700. Edited by R. A. Lewin. New York and London 1962.
Vidaver, W.: Plant. Physiol. *41*, 87–89 (1966).

Dr. W. Neuscheler, Botanisches Institut der Universität, 852 Erlangen, Schloßgarten 4 (present address: Dept. of Biology, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pa., U. S. A.)

Lebenslauf

Name:	Wilhelm Neuscheler
Geburtstag:	25. Mai 1936
Geburtsort:	Tübingen
Eltern:	Dr. Eugen Neuscheler, I. Bibliotheksrat Rita Neuscheler, geb. Kaiser
Schulbildung:	Grundschule, Uhlandgymnasium, Tübingen, Ulrich-von-Hutten-Oberschule, Korntal; Kepler-Gymnasium, Tübingen, dort Abitur Frühjahr 1956
Studium:	Seit Sommer 1956 Fächer: *Biologie*, Chemie, Geographie an den Universitäten Tübingen, Wien und Erlangen-Nürnberg
Examen:	Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien in den Fächern *Biologie*, Chemie, Geographie. Tübingen, November 1962.